

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE DIJON

ANNÉE 1969

T H E S E

présentée

à la FACULTÉ DES SCIENCES
DE L' UNIVERSITÉ DE DIJON

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

par

Claude SENAULT-BOURNIQUE

EFFETS DE DIVERS RÉGIMES ALIMENTAIRES
SUR LES CONSTITUANTS LIPIDIQUES DU RAT
ADAPTÉ A DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES -
RELATIONS AVEC L'ATHEROGENESE

Soutenue ledécembre 1969 devant la Commission d'Examen

JURY

Président M.G. CLEMENT

Examineurs { M.J. BEZARD
M.L. CHEVILLARD
M.R. PORTET

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE DIJON

ANNEE 1969

T H E S E

présentée

à la FACULTE DES SCIENCES
DE L' UNIVERSITE DE DIJON

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

par

Claude SENAULT-BOURNIQUE

EFFETS DE DIVERS RÉGIMES ALIMENTAIRES
SUR LES CONSTITUANTS LIPIDIQUES DU RAT
ADAPTE A DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES -
RELATIONS AVEC L'ATHÉROGÈNESE

Soutenue le 10 décembre 1969 devant la Commission d'Examen

JURY

Président M.G. CLEMENT

	M. J. BEZARD
Examineurs	M. L. CHEVILLARD
	M. R. PORTET

UNIVERSITEIT LEIDEN

1900

1900

1900

UNIVERSITEIT LEIDEN

1900

UNIVERSITEIT LEIDEN

1900

UNIVERSITEIT LEIDEN



UNIVERSITEIT LEIDEN

UNIVERSITEIT LEIDEN

1900

UNIVERSITEIT LEIDEN

UNIVERSITEIT LEIDEN

UNIVERSITEIT LEIDEN

UNIVERSITEIT LEIDEN

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE DIJON

DOYEN : Madame MORET-BAILLY Françoise, Professeur sans Chaire de Mathématiques

ASSESSEUR : Monsieur TIROUFLET Jean, Professeur titulaire de Chaire de Chimie

PROFESSEURS TITULAIRES DE CHAIRE :

M. CIRY Raymond, Professeur de Géologie
M. D'ORGEVAL DUBOUCHET Bernard, Professeur de Mathématiques
M. BOUCHARD Jean, Professeur de Physique
M. ARNAL Claude, Professeur de Biologie végétale
M. ARBAULT Jean, Professeur de Mathématiques
M. BARRET Pierre, Professeur de Chimie
M. CLEMENT Guy, Professeur de Physiologie animale
M. HUSSON Roger, Professeur de Biologie générale
M. BARON Christian, Professeur de Biochimie
M. NOIROT Charles, Professeur de Zoologie
M. HENRY Pierre, Professeur de Botanique Appliquée
M. PIGEAUD Pierre, Professeur de Mathématiques
M. TINTANT Henri, Professeur de Paléontologie
Mme WATELLE Ginette, Professeur de Chimie
M. GODEFROY Lucien, Professeur de Physique

PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL :

M. AMIOT Raymond, Professeur de Physique
M. RAT Pierre, Professeur de Géologie
M. CHAUDONNERET Jean, Professeur de Biologie générale
M. VERNIER Pierre, Professeur de Physique
M. FOURNARI Pierre, Professeur de Chimie

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

M. BUGNON François, Maître de Conférences de Biologie végétale
M. MORET-BAILLY Jacques, Maître de Conférences de Physique
M. CACHON Pierre, Maître de Conférences de Physique
Mme GODEFROY Geneviève, Maître de Conférences de Physique
M. GUYOT Michel, Maître de Conférences de Biologie végétale
M. JOUBERT Jean-Claude, Maître de Conférences de Mathématiques

MAITRES DE CONFERENCES

M. FEUILLEE Pierre, Maître de Conférences de Géologie
M. BEZARD Jean, Maître de Conférences de Physiologie animale
M. PERSON Maurice, Maître de Conférences de Chimie
M. ROUBAUD Jacques, Maître de Conférences de Mathématiques
Mlle LEROY Yveline, Maître de Conférences de Psychophysiologie
M. COLSON Jean-Claude, Maître de Conférences de Chimie
M. GUILLOT Jean-Claude, Maître de Conférences de Mathématiques
M. PARIS Michel, Maître de Conférences de Chimie
M. PAUTY Michel, Maître de Conférences de Physique
M. REMOISSENET Michel, Maître de Conférences de Physique

A Mr le Professeur CLEMENT, Directeur du Laboratoire de Physiologie animale et de la Nutrition à la Faculté des Sciences de DIJON, mon parrain au C.N.R.S., je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour l'honneur qu'il me fait d'avoir accepté la présidence de cette thèse, et pour les encouragements bienveillants qu'il m'a toujours prodigués.

Je remercie Mr le Professeur BEZARD, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de DIJON, d'avoir bien voulu faire partie du jury et lui suis reconnaissante pour l'enseignement que j'ai reçu dans le laboratoire du Professeur CLEMENT sur la chromatographie en phase gazeuse, ainsi que pour les utiles conseils qu'il m'a donnés.

A Mr CHEVILLARD, Directeur de Recherches au C.N.R.S., Directeur de Laboratoire à l'E.P.H.E., qui m'a accueillie dans son laboratoire, où j'ai été formée aux méthodes et à l'esprit de recherche, avant d'entreprendre, sous sa direction, le travail présenté, j'exprime ma très sincère reconnaissance.

Que Mr PORTET, Directeur adjoint à l'E.P.H.E. qui a toujours dirigé avec attention mes travaux et m'a donné de précieux conseils pour la poursuite et leur rédaction, accepte l'expression de toute ma gratitude.

Mes remerciements vont également à mes collègues du laboratoire et en particulier à Mmes HLUSZKO et de VAISSIERE avec lesquelles j'ai travaillé en très étroite et amicale collaboration.

Toute notre reconnaissance va au Professeur TREMOLIERES qui, en tant que Président de la Commission de Nutrition de la D.G.R.S.T. et de l'I.N.S.E.R.M., nous a permis d'obtenir un contrat de recherches de ces organismes et

avec qui nous avons eu des discussions fructueuses sur l'évolution de ce travail.

Je tiens aussi à remercier Mr le Professeur COMBESCOT (TOURS) et son assistante Mme REYNOUARD qui se sont chargés des études histologiques.

Nous remercions Mr le Docteur HERAUD et le Centre d'Etudes du Sucre (C.E.D.U.S.) pour l'aide financière qui nous a été accordée pour la poursuite d'une partie de notre étude.

S O M M A I R E

=====

	<u>Pages</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>BUT DU TRAVAIL et METHODES UTILISEES</u>	3
Chapitre I - <u>MATERIEL et TECHNIQUES</u>	5
1°) Mesure de la valeur calorique des ingesta et des excréta	5
2°) Mesure des échanges respiratoires	5
A) Appareil de CARLO ERBA	6
B) Installation type BENEDICT	6
1)- Description de l'installation	6
2)- Conditions d'expérience	7
3)- Dosage du CO ₂	8
3°) Mesure de la pression artérielle	9
4°) Prélèvement du sang	9
5°) Dosage des lipides	9
A) Extraction des lipides	9
1)- Lipides des fécès et des régimes	10
2)- Lipides de la carcasse et des organes	11
3)- Lipides sériques	12
B) Identification des lipoprotéines sériques	12
1)- Electrophorèse	12
2)- Test de BURSTEIN	13
3)- Méthode de BURSTEIN et SAMAILLE	14
C) Dosage du cholestérol	14
1)- Méthode de ZAK et coll.	15
2)- Méthode de SPERRY et WEBB	15
D) Dosage du phosphore lipidique	16
E) Méthodes chromatographiques de séparation des lipides	17
1)- Chromatographie en couches minces	17
2)- Chromatographie en phase gazeuse	19

	<u>Pages</u>
6°) Histologie	21
7°) Expression des résultats et comparaisons statistiques	23
Chapitre II - <u>CONDITIONS D'ENVIRONNEMENT et DE REGIME</u>	24
1°) Température d'adaptation	24
2°) Régimes	24
Chapitre III - <u>EFFETS PHYSIOLOGIQUES DE LA TEMPERATURE D'ADAPTATION et DU REGIME ALIMENTAIRE</u>	26
1°) Mortalité	26
2°) Croissance	26
3°) Etude de l'utilisation énergétique des divers régimes	27
A) Conditions de mesure	27
B) Résultats	27
1)- Ingestion calorique	27
2)- Dépense calorique - Mesure des échanges respiratoires	28
3)- Utilisation digestive des lipides alimentaires	30
4)- Mesure des réserves lipidiques = Dosage des lipides de la carcasse	30
C) Conclusion	31
4°) Pression artérielle	32
Chapitre IV - <u>EFFETS DE LA TEMPERATURE D'ADAPTATION et DES REGIMES SUR LES CONSTITUANTS LIPIDIQUES DE L'ORGANISME</u>	34
1°) Variations de la cholestérolémie et de la phospholipidémie	34
2°) Etude des lipoprotéines sériques	35
A) Etude du lipidogramme - Test de Burstein	35
1)- Lipides totaux sériques	35
2)- α et β lipoprotéines	36

B) Etude de la teneur en cholestérol des α et β lipoprotéines séparées par la méthode de Burstein	36
C) Conclusion	36
3°) Composition lipidique de certains organes	37
A) Poids des organes	38
B) Composition	38
1)- Foie	38
2)- Tissu adipeux brun et blanc	40
C) Conclusion	41
4°) Composition lipidique du sérum	48
a) Lipides totaux	49
b) Acides gras libres	49
c) Triglycérides	49
d) Cholestérol	50
e) Phospholipides	50
f) Conclusion	51
5°) Acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol	51
A) Triglycérides	52
1)- Foie	52
2)- Sérum	52
3)- Epididyme	53
4)- Conclusion	53
B) Esters du cholestérol	55
1)- Foie	55
2)- Sérum	55
C) Discussion	56
Chapitre V - <u>ETUDE HISTOLOGIQUE D'ORGANES et GLANDES</u> <u>ENDOCRINES</u>	59
1°) Aorte	59
2°) Autres organes et glandes endocrines	60
a) Coeur	60

	<u>Pages</u>
b) Surrénales	61
c) Reins	61
d) Thyroïde	62
3°) Discussion	62
Chapitre VI - <u>RELATION ENTRE L'ATHÉROGÉNESE et LE</u> <u>METABOLISME DES LIPIDES</u>	65
A) Régimes	65
1)- Lipides sériques	65
2)- Acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol	67
B) Température	68
<u>CONCLUSION GÉNÉRALE</u>	69
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	75

=====

I N T R O D U C T I O N

=====

L'exposition prolongée des animaux à des températures autres que celles auxquelles ils ont l'habitude de vivre produit un certain nombre de modifications physiologiques et métaboliques inhérentes au phénomène d'adaptation.

Ces modifications portent sur plusieurs mécanismes de régulation du métabolisme énergétique. Cependant, malgré l'abondance des travaux faits dans le domaine de l'adaptation depuis une trentaine d'années, les divers mécanismes en sont encore mal connus.

L'accélération générale du métabolisme, provoquée par le maintien au froid, est accompagnée de modifications dans les diverses voies de transfert d'énergie (SMITH et HOIJER 1962) qui permettent à l'organisme de lutter plus efficacement contre l'augmentation de sa déperdition de chaleur. Ces changements se produisent après un certain temps d'adaptation à la température et sont sous la dépendance de sécrétions hormonales. Parmi celles-ci, il semble que les catécholamines aient un rôle prépondérant. L'élévation du taux de production de ces hormones chez l'animal adapté au froid (LEDUC 1961) se répercute sur le métabolisme des lipides. On observe une mobilisation accrue des réserves lipidiques à partir des dépôts tissulaires (AUJARD (1953), HART et HEROUX (1956), GORDON (1960) et une augmentation de l'oxydation des acides gras dans le foie (SELLERS et YOU (1949), FELTS et MASORO (1959), DENYES et HASSET (1960), DENYES et CARTER (1961). Les lipides seraient d'après KAYSER (1937), PAGE (1957) et LEBLANC (1957) des substrats préférentiels pour la thermogénèse de réchauffement.

La lipogénèse est selon les auteurs favorisée par l'exposition au froid (CHENIER 1954, PERRY 1958) ou, au contraire, inhibée (MASORO 1963). L'intervention des différents tissus dans ces phénomènes est discutée. Alors que le foie semble jouer un rôle surtout dans les dégradations, le tissu adipeux blanc apparaît comme un lieu de synthèse (FAVARGER 1955). Quant au tissu adipeux brun, qui est très développé chez les animaux adaptés au froid, son rôle dans la thermogénèse de réchauffement fait actuellement l'objet de nombreuses recherches (SMITH 1969). Il semble donc qu'une des caractéristiques de l'adaptation à basse température soit l'apparition de modifications du métabolisme lipidique.

On a longtemps estimé que le Rat est résistant à l'induction de l'athérome expérimental (SPERRY et STOVANOFF (1935)). Certains auteurs pensent, cependant, que l'exposition au froid intensifie les processus qui conduisent à l'athérome dans certaines conditions de régime : régimes commerciaux (SELLERS et YOU 1956), hyperlipidiques et additionnés de cholestérol ou de substances athérogènes (WILGRAM (1959), SELLERS et BAKER (1960)). Il est possible que la durée de maintien aux régimes, la composition de ceux-ci, la température d'adaptation des animaux qui sont variables selon les auteurs jouent un rôle dans l'apparition des lésions.

BUT DU TRAVAIL et METHODES UTILISEES

=====

Nous avons, dans ce travail, étudié certains aspects énergétiques de l'adaptation à la température (5°C ou 30°C) chez des rats LONG EVANS soumis à des régimes pauvres (5 %) ou riches en lipides (30 %). Ceci nous a conduit à mesurer, à divers stades de l'adaptation, l'ingestion et les dépenses caloriques journalières des rats.

Il est possible que le maintien des animaux à des températures basses, modifie l'importance relative de l'intervention des divers substrats dans les dépenses énergétiques globales, surtout en ce qui concerne les lipides, nutriment énergétique. Nous avons donc étudié l'utilisation digestive des lipides du régime et mesuré leur accumulation dans l'organisme. Nous avons également déterminé le taux et la composition des lipides de l'épididyme et de la graisse brune interscapulaire, tissus prenant une part active dans la lipogénèse.

Afin d'étudier un aspect des modifications du métabolisme lipidique apportées par le régime et la température, nous avons dosé, dans le sérum et le foie, les taux relatifs des diverses classes de lipides et leur composition en acides gras.

Enfin, l'étude de la température sur l'athérogénèse a été faite par administration d'un régime riche en lipides (30 %) et additionné de 2 % de cholestérol et comparaison de ses effets sur les lipides organiques et les lésions athéromateuses de l'aorte avec ceux des autres régimes.

Les résultats histologiques des premières séries nous ont conduit à étudier, également, l'influence de la nature des sucres administrés dans le régime. Les effets pathologiques pouvant se produire tardivement, tous les régimes ont été donnés pendant au moins un an.

CHAPITRE I

=====

MATÉRIEL et TECHNIQUES

Nous avons, dans nos recherches, utilisé un certain nombre de techniques que nous décrivons ci-dessous.

1°) Mesure de la valeur calorique des ingesta et des excréta

Les pouvoirs caloriques des aliments absorbés et des fécès sont déterminés à l'aide d'une bombe calorimétrique de FERRY. Les échantillons sont comprimés et placés dans un creuset à l'intérieur de l'appareil. Ce dernier est rempli d'O₂ sous pression de 20 kg/cm². La combustion de l'échantillon est provoquée par le passage du courant du secteur dans un filament métallique.

Le pouvoir calorique est linéairement proportionnel à la déviation d'un millivoltmètre. Le coefficient de proportionnalité dépend de l'appareil. Il est mesuré en utilisant comme substance de référence de l'acide benzoïque R P, dont la combustion dégage 6,319 Calories/g. On pèse le résidu minéral non comburé.

2°) Mesure des échanges respiratoires

Nous avons utilisé deux méthodes en circuit fermé.

A) Appareil de CARLO ERBA

Le principe de l'appareil est le suivant : l'O₂ utilisé par l'animal est produit par électrolyse de l'eau. Le gaz carbonique dégagé est fixé dans des absorbeurs à NaOH, placés dans le circuit extérieur. L'oxygène est libéré par la cellule à électrolyse au fur et à mesure des besoins et la quantité dégagée est proportionnelle à la quantité d'électricité qui a traversé l'appareil (loi de FARADAY). Le gaz carbonique fixé dans les absorbeurs à NaOH est dosé par titrimétrie ou au PHmètre, sur une partie aliquote de la solution de NaOH. La durée des mesures est d'une heure. Cet appareil permet de déterminer la consommation d'O₂ et le QR $\frac{(\text{CO}_2 \text{ rejeté})}{(\text{O}_2 \text{ absorbé})}$.

Les expériences ont été faites sur les rats, maintenus dans leurs conditions habituelles de milieu thermique, mais qui ont été privés de nourriture au cours des 2 ou 3 heures qui précèdent les mesures (afin d'éviter la phase aiguë de l'ADS).

Les dépenses énergétiques sont exprimées en Calories/m²/h. Elles sont calculées en multipliant par le coefficient thermique de l'oxygène correspondant au QR, le volume d'oxygène utilisé par l'animal. La surface des animaux a été calculée à partir de leur poids en utilisant la formule :
 $S = 0,091.P^{2/3}$.

B) Installation type BENEDICT

1)- Description de l'installation (fig. 1)

Le rat est placé dans une cage à métabolisme permettant de recueillir les urines et les fécès. Cette cage est introduite dans une enceinte close à joints hydrauliques de 50 litres environ. L'ensemble de l'installation fonctionne en circuit fermé. Une pompe étanche (pompe à métabolisme JOUAN)

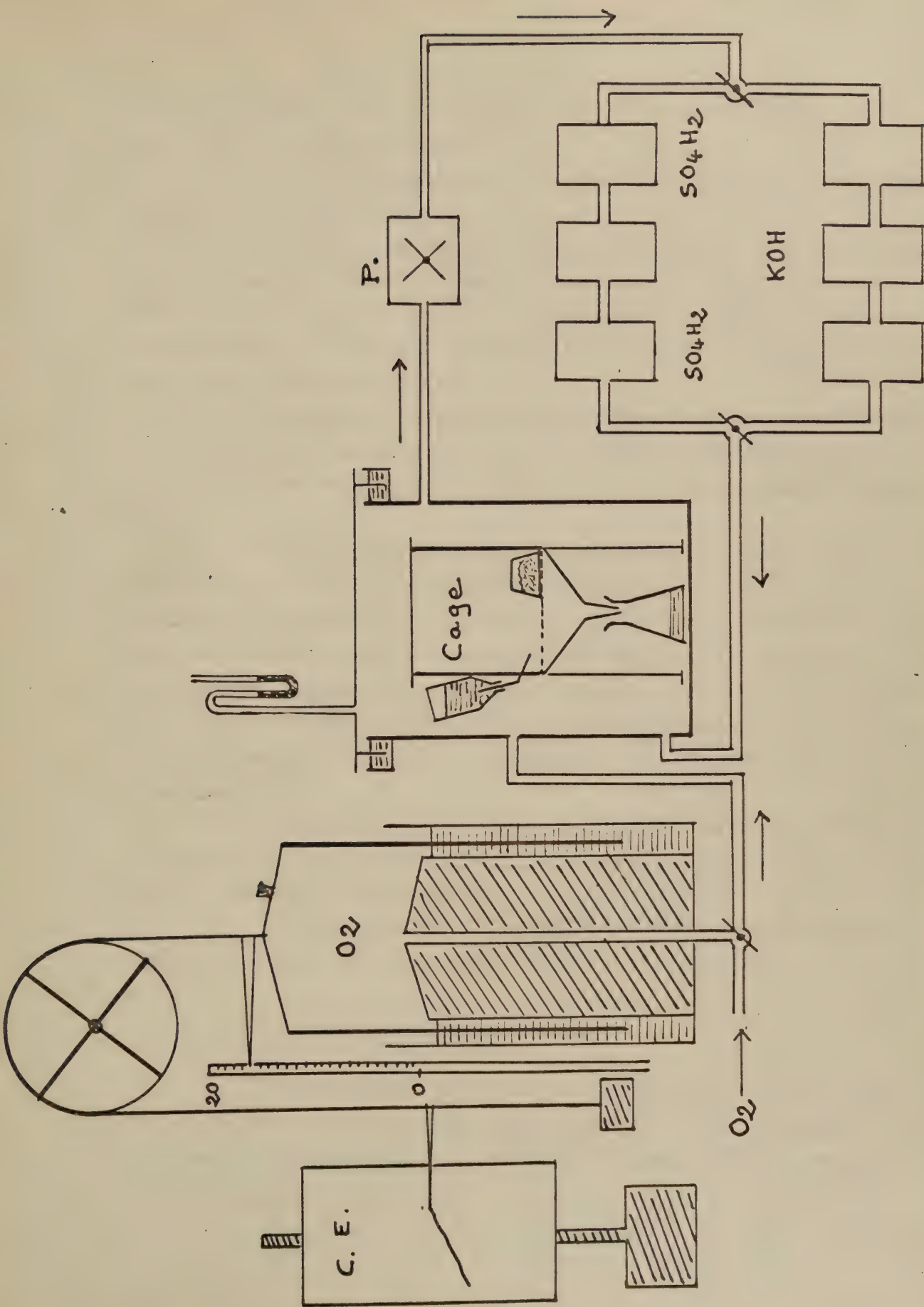


Figure 1 : Installation type BENEDICT

fait circuler l'air de la cage dans des absorbeurs d'une capacité de 2 litres environ :

- un 1er absorbeur à SO_4H_2 6N fixe la vapeur d'eau dégagée par l'animal.
- un 2ème absorbeur à KOH 6N fixe le CO_2 rejeté et réhydrate partiellement l'air circulant. L'efficacité de l'absorption du CO_2 a été contrôlée à de nombreuses reprises par prélèvement du mélange gazeux de l'enceinte en fin de mesure et dosage eudiométrique

Une autre série d'absorbeurs montés parallèlement peut être mise en circuit, grâce à un jeu de robinets à 3 voies, permettant ainsi de faire des mesures partielles de CO_2 .

Un gazomètre de 25 litres rempli d'oxygène et connecté avec l'enceinte permet de remplacer automatiquement l'oxygène consommé par l'animal. Le volume d'oxygène utilisé est lu sur une échelle graduée. Un stylet inscripteur à encre, placé sur l'appareil, permet d'enregistrer sur un cylindre, le déplacement vertical de la cloche du gazomètre. On a ainsi un enregistrement continu de la quantité d'oxygène consommée par l'animal.

L'étanchéité de l'installation est vérifiée pendant 24 heures à intervalles réguliers, le gazomètre étant maintenu en très légère surpression.

L'ensemble de l'installation est placé dans une chambre à température constante.

2)- Conditions d'expérience

Les mesures sont faites sur des périodes de 24 heures environ et commencent à 18 heures. L'éclairement de la chambre est assuré sur un cycle 12 heures d'éclairage-12 heures d'obscurité.

a)- Mesure de la consommation d'oxygène

Les consommations d'oxygène sont calculées à partir de l'enregistrement graphique. Un enregistrement parallèle de la pression atmosphérique permet de corriger les volumes d'oxygène en fonction des variations barométriques.

b)- Mesure du gaz carbonique émis.

Les absorbeurs de CO_2 sont pesés au début et en fin d'expérience sur une balance de 5 Kg de portée, sensible au mg. La quantité de CO_2 fixée sur KOH est dosée sur une prise aliquote de 1 ml dont le poids est déterminé au 10ème de mg. Dans ces conditions, les erreurs de pesée sont inférieures à 1/1.000. Le dosage est fait au pH-mètre et permet de déterminer la production globale de 24 heures.

c)- Mesure de la vapeur d'eau

La teneur en vapeur d'eau de l'atmosphère de la cage est voisine de 90 % à 5°C et de 50 % à 30°C. Ces teneurs sont peu différentes de celles dans lesquelles vivent normalement les animaux. Le poids de vapeur d'eau émise en 24 heures est calculée d'après :

- l'augmentation de poids du barboteur à SO_4H_2 ;
- la diminution de poids du barboteur à KOH compte tenu du poids de CO_2 fixé.

3)- Dosage du CO_2

a)- Dosage par titrimétrie

Le dosage du CO_3Na_2 contenu dans la solution de NaOH est fait sur 3 prises aliquotes de 1 ml. Après précipitation de la soude libre par Cl_2Ba , l'alcalinité libre et l'alcalinité totale sont dosées en présence de thymophtaléine et d'hélianthine.

b)- Dosage au pHmètre

L'appareil utilisé est un pHmètre METROHM ; la courbe de neutralisation de la solution de KOH par une solution de HCl de titre connu, voisin de la neutralité est établie. La quantité d'acide utilisée entre les points d'équivalence du carbonate et du bicarbonate (pH 8 et pH 4) permet de déterminer la moitié du CO_2 fixé dans la prise d'essai de KOH. On en déduit la quantité totale dégagée par l'animal pendant 24 heures.

3°) Mesure de la pression artérielle

La pression artérielle est mesurée par voie non sanglante, sur l'animal éveillé, par pléthysmographie avec l'appareil de GIONO, CHEVILLARD et KRAUTHAMER (1953).

4°) Prélèvement de sang

Le sang est prélevé par ponction du plexus veineux rétrolobulaire de l'orbite sur l'animal légèrement anesthésié à l'éther. On utilise une pipette coudée de verre dont l'extrémité est effilée en capillaire. Il est ainsi possible de recueillir 2 cm^3 de sang pour des rats de 300 à 400 g. sans dommage aucun pour l'animal.

5°) Dosage des lipides

A) Extraction des lipides

Nous avons utilisé, au cours de nos expériences, plusieurs méthodes d'extraction des lipides organiques. Elles

consistent en une séparation quantitative et se terminent par une pesée du résidu lipidique sur une balance de précision permettant d'estimer le 10ème de mg.

1)- Lipides des fécès et des régimes

Le dosage des lipides totaux des fécès et des régimes alimentaires a été fait par la méthode de ZUCKERMAN et coll. (1949) et par la méthode du KUMAGAWA.

a)- Méthode de ZUCKERMAN

L'extraction des lipides est faite par un mélange en quantités égales d'hexane et d'éther éthylique.

Après dessiccation des fécès ou du régime, des échantillons de 500 mg sont prélevés et pesés directement dans des tubes à centrifuger. On ajoute :

- 5 ml d'HCl N
- 5 ml du mélange éther-hexane (1/1-V/V)
- 2 gouttes d'éthanol à 95°.

Après agitation mécanique pendant 25 minutes on centrifuge, pendant 15 minutes, à 2.500 t/min. La phase supérieure est prélevée et on procède à une nouvelle extraction avec 5 ml de solvant. Les deux liquides d'extraction sont évaporés jusqu'à poids constant. On exprime la teneur en lipides en pour cent de la prise d'essai.

b)- Méthode du KUMAGAWA

L'extraction des lipides est faite dans l'appareil de KUMAGAWA par 40 ml d'éther éthylique R.P. pour une prise d'essai de 0,5 à 1 g. pendant 1 h. Le poids des lipides est déterminé comme précédemment après évaporation à sec du solvant.

La comparaison des résultats obtenus par les 2 méthodes montre une concordance très satisfaisante.

2)- Lipides de la carcasse et des organes

Deux techniques ont été utilisées : les méthodes de FOLCH et de CHAIKOFF.

a)- Préparation

La carcasse, c'est-à-dire l'animal entier saigné et privé du foie, du coeur, des reins et du tractus digestif, est broyée à 5° C, en présence de 1.500 ml d'eau à l'aide d'un broyeur ULTRATURRAX. Des parties aliquotes de 10 ml du broyat sont prélevées et séchées à 70°C pendant 15 heures. On en déduit le poids sec de la carcasse. On procède ensuite à l'extraction des lipides.

L'extraction des lipides des organes est faite sur des prises de 500 mg à 1 g d'organes frais finement lacérés.

b)- Extraction

- Méthode de FOLCH et coll. (1954)

On homogénéise au Potter la prise d'essai avec 20 ml de mélange (2/1) chloroforme-méthanol. On filtre dans des tubes à centrifuger, on ajoute 4 ml d'eau distillée, et centrifuge. La phase chloroformique est prélevée et évaporée ; la teneur en lipides est calculée en pourcentage du poids sec.

- Méthode de CHAIKOFF et coll. (1954)

L'hydrolyse des tissus est faite par de l'éthylate de Na.

Des fragments de 500 mg de tissu environ sont prélevés et placés dans des Erlenmeyers de 50 ml. On ajoute 8 à 10 ml d'alcool éthylique à 95° + 2 ml d'éthylate de sodium (préparation extemporanée de 250 mg de Na dans 10 ml d'alcool à 95°) . Après agitation, on hydrolyse sur bain de vapeur pendant 40 min. La vitesse d'évaporation est réduite par bouchage

partiel. Après avoir ajouté 3 ml d'eau distillée, l'alcool est chassé par évaporation.

On procède à l'extraction des lipides après refroidissement, en milieu acide (en ajoutant SO_4H_2 5 N jusqu'à pH 4), par agitation en présence de CHCl_3 , puis on centrifuge 10 min. à 2500 t/min. La solution chloroformique est prélevée à la seringue ; une partie aliquote est utilisée pour les dosages. Il a été vérifié qu'une seule extraction avec 10 ml de CHCl_3 est suffisante. Le poids du résidu lipidique séché est déterminé.

3)- Lipides sériques

Nous avons utilisé deux techniques.

a)- Méthode de BLOOR (1916)

On extrait les lipides sériques sur 1 ml de sérum, par 40 ml d'un mélange éther éthylique-éthanol (1/3) à ébullition. On effectue 3 extractions successives après centrifugation. On évapore à sec et pèse le résidu.

b)- Méthode de FOLCH modifiée par POLONOVSKI et PETIT (1963)

L'extraction est faite par un mélange méthanol-chloroforme (2/1): 20 ml pour 2 ml de sérum. Après centrifugation, on extrait à nouveau par 10 ml de mélange. Le surnageant est versé dans une ampoule à décanter, on ajoute 30 ml de CHCl_3 . On lave avec 20 ml de ClNa à 1 p. 1.000, agite et laisse décanter 2 heures. La phase inférieure est soutirée dans un ballon taré. Le résidu est pesé après évaporation.

B) Identification des lipoprotéines sériques

Les lipoprotéines sériques ont été étudiées par électrophorèse sur papier, par le test de BURSTEIN (1961)

et séparées par la méthode de BURSTEIN et SAMAILLE (1959).

1)- Electrophorèse

Les lipidogrammes et les protéinogrammes sont faits sur du papier C. SCHLEICHER et SCHÜLL DASSEL n° 2043 en bandes de 28,3 x 3,8 cm. La migration dure 14 h. sous 110 volts. On utilise une solution tampon de formule suivante :

véronal sodique	17,655 g
acétate Na	11,655 g
oxalate K	4,152 g
H ₂ O dist. qsp	3 litres

On ajoute à pH 8,6 avec HCl N.

a) Les protéinogrammes sont faits sur 20 µl de sérum et colorés par du vert de lissamine à 3/1.000 en milieu acétique.

b) Les lipidogrammes faits sur 40 µl, sont colorés par du Noir Crésol à 0,5 /1.000 dans de l'éthanol à 50°.

c) La lecture de la coloration est faite par densitométrie (PHOTOVOLT modèle 525) ; la surface des pics est mesurée par planimétrie.

d) Calculs. Sur les protéinogrammes, on calcule les proportions relatives d'albumines et de α_1 , α_2 , β , et γ globulines. Sur les lipidogrammes on détermine les taux relatifs d' α et β lipoprotéines. Les α sont situées au niveau des albumines et des α_1 globulines et les β au niveau des α_2 , β et γ globulines.

2)- Test de BURSTEIN

Principe : dans un milieu à faible force ionique, l'héparine en présence de Cl_2Ca précipite sélectivement et en totalité les β lipoprotéines en donnant une suspension homogène. Le dosage peut être fait par turbidimétrie.

Dosage : dans des cuves de spectrophotomètre BECKMANN, on verse 2,5 ml de solution de Cl_2Ca . 0,025M. On ajoute 0,25 ml d'eau et 0,25 ml de sérum.

La densité optique est mesurée en lumière monochromatique (700 mμ). On ajoute 0,25 ml de solution d'héparine à 1/100 (Dextrarine EGIC). Après 4 minutes, on lit la nouvelle densité optique ; la différence entre les deux mesures est une fonction linéaire de la teneur du sérum en β lipoprotéines.

3)- Méthode de BURSTEIN et SAMAILLE

Cette méthode permet de séparer quantitativement les α et les β lipoprotéines et de les obtenir en solution. La séparation est faite par le sulfate de dextrane qui précipite les β lipoprotéines.

A 1 volume de sérum, on ajoute 0,04 volume de solution de sulfate de dextrane (Dextrarine Egic) à 750 U/ml et 0,1 vol. de solution de Cl_2Ca M. Après agitation, on laisse reposer 12 heures au froid et on centrifuge 10 min. à 6.000 t/min. . Les β lipoprotéines sont dans le culot et les α dans le surnageant.

Les β lipoprotéines sont mises en solution, par addition d'1 volume de sérum physiologique, puis 0,1 volume de solution de $(\text{COO})_2\text{Ca}$, M. On opère, ensuite comme précédemment. Le Ca est précipité dans le culot et les β lipoprotéines sont en solution limpide dans le surnageant.

C) Dosage du cholestérol

Diverses méthodes ont été utilisées qui utilisent toutes la précipitation sélective du cholestérol libre par la digitonine.

1)- Méthode de ZAK et coll. (1954)

Elle a été employée pour doser directement le cholestérol total et libre sur l'extrait lipidique de sérum.

a)- Cholestérol total

Il est dosé sur 1 ml de l'extrait lipidique correspondant à 0,1 ml de sérum. Après évaporation à sec sous vide, on colore avec 2 ml de réactif colorant en présence de 3 ml d'acide acétique R.P. pour cryoscopie. Le réactif colorant est préparé en dissolvant, dans 100 ml de SO_4H_2 R.P., 1 ml de solution acétique de Cl_3Fe à 10 %.

b)- Cholestérol libre

Sur 1 ml d'extrait lipidique évaporé, on procède à une précipitation par 1 ml de solution alcoolique de digitonine à 1 %. Après 10 min. de contact, on centrifuge à 6.000 t/min. pendant 10 min. Après lavage par 4 ml d'acétone, on dissout le précipité dans 3 ml d'acide acétique (au bain-marie). On ajoute 2 ml de réactif colorant. La coloration obtenue est comparée à celle d'une gamme préparée simultanément avec des quantités connues de cholestérol. La densité optique est lue à 560 mμ sur un spectrophotomètre BECKMANN. Un blanc est fait parallèlement, en utilisant tous les réactifs, mais sans cholestérol.

2)- Méthode de SPERRY et WEBB (1950)

Elle a été employée pour doser le cholestérol des organes. L'extrait lipidique sec est repris par du chloroforme dans des fioles de 10 ml. On prélève une partie aliquote qu'on évapore et reprend par un mélange alcool-acétone 1/1. Le dosage du cholestérol total est fait après hydrolyse préalable

des esters par 3 gouttes de KOH.N., au bain-marie à 45°C pendant 30 min. Le cholestérol libre est dosé sans hydrolyse. La solution est acidifiée par CH_3COOH à 10 % jusqu'à virage de la phénolphthaléine.

La précipitation et le dosage sont ensuite faits en utilisant la méthode de ZAK.

D) Dosage du phosphore lipidique

Ce dosage est fait sur l'extrait lipidique sérique et hépatique par la méthode de BRIGGS (1922), après minéralisation perchloronitrique.

La minéralisation de l'extrait sec est faite par 0,3 ml de SO_4H_2 concentré dans un tube chauffé avec précaution. Après noircissement, on refroidit et on décolore par quelques gouttes de mélange perchloronitrique à chaud (acide nitrique - acide perchlorique 1.1, V/V).

L'hydrolyse est faite par addition d'eau bidistillée, au bain-marie bouillant pendant 15 min.

On colore par le réactif sulfomolybdique et hydroquinone :

1 ml Sulfite Na à 20 %
1 ml Hydroquinone à 5 %
1 ml Molybdate de NH_4 à 5 %
0,3 ml SO_4H_2 concentré

Une gamme est préparée parallèlement en ajoutant des quantités connues de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ (10 % de P/ml). Les tubes sont complétés à 10 ml par H_2O . La coloration maximum se développe à froid en 30 min. (On lit la densité optique au spectrophotomètre à 530 mμ.

On calcule la quantité de phospholipides par ml de sérum en multipliant le poids de phosphore minéral par 25.

E) Méthodes chromatographiques de séparation des lipides

1)- Chromatographie en couches minces

1 - Dosage densitométrique des lipides sériques

Les divers lipides sériques ont été déterminés par mesure densitométrique des diverses tâches de lipides carbonisées après séparation sur gel de silice selon la technique de LINES (1963).

a) Préparation des plaques

On opère avec des plaques de verre de 20 x 20 cm parfaitement propres.

Le gel de silice est préparé à partir d'un volume égal de gel de silice MERCK et d'eau distillée. Le mélange est agité vigoureusement pendant 2 min. Le support est réparti avec un étaleur DESAGA sur une épaisseur uniforme de 2,5 μ . Après prise du support les plaques sont mises à sécher à l'étuve à 110°C pendant 1 heure. Elles doivent être ensuite rapidement utilisées.

Avant usage, pour éviter des phénomènes capillaires, on trace, tout autour de la plaque, avec une pointe de verre fine, un trait situé à environ 2 mm. du bord, et on élimine par grattage la bande ainsi délimitée.

Avant les étalements, les plaques sont lavées en les plaçant dans une cuve à élution contenant du chloroforme MERCK. Puis on laisse sécher à l'air.

b) Dépôt et développement

On dépose le mélange à analyser en solution chloroformique (3 à 12 % de lipides totaux) en une petite tâche à 1,5 cm du bas de la plaque. On trace le front à 10 cm. On élue avec le mélange suivant :

- éther de pétrole 45°-60° 90 ml

- éther éthylique R.P. 10 ml
- ac. acétique pour cryoscopie 1 ml

On obtient une bonne séparation des divers lipides avec les Rf suivants :

cholestérol estérifié	0,95
triglycérides	0,40
acides gras libres	0,20
cholestérol libre	0,10
phospholipides	0,00

On étale et élue en même temps une substance de référence (HORMEL institute) ayant la composition suivante :

oléate de cholestérol	19,99 %
trioléine	19,99 %
acide oléique	19,99 %
cholestérol	20,05 %
lécithine hydrogénée	20,00 %

Après séchage, on carbonise les plaques en les vaporisant avec une solution d'acide sulfurique à 10 %, puis en les passant dans un four dont la température s'élève de la température ambiante à 200°C en 1 heure environ.

Après refroidissement, les plaques sont vaporisées avec un film durcissant de Néonéathan MERCK, et la couche de silice détachée de la plaque de verre après avoir été recouverte par du papier adhésif transparent. Ce procédé facilite la conservation des plaques.

La lecture de l'intensité de la coloration des taches est faite au densitomètre PHOTOVOLT. La surface des divers pics est mesurée. A l'aide des valeurs obtenues avec la substance de référence, on établit des abaques permettant de connaître la quantité de chacun des lipides correspondant à un pic déterminé. On ramène ces valeurs à 1 ml de sérum.

2 - Chromatographie préparative

Les plaques utilisées sont recouvertes d'une couche

de gel de silice de 500 ml. L'extrait lipidique en solution chloroformique est déposé en une bande de quelques mm. de largeur à 1,5 cm. du bord de la plaque. On élue avec le même mélange que celui utilisé pour la méthode quantitative.

On révèle les bandes, sur la moitié de la plaque, en la plaçant pendant 30 sec. dans un bac à iode.

Les différentes bandes de lipides sont grattées sur la partie de la plaque non exposée aux vapeurs d'iode. La silice est récupérée sur des entonnoirs en verre fritté. Les fractions lipidiques sont éluées à 3 reprises avec 5 ml d'un mélange éther de pétrole-éther éthylique 95/5 pour les triglycérides et 99/1 pour les esters du cholestérol. Le liquide d'élution recueilli dans des ballons est évaporé sous vide et sous courant d'azote et gardé une nuit dans un dessiccateur contenant du P_2O_5 .

2)- Chromatographie en phase gazeuse

Elle a été utilisée pour doser les acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol.

a)- Hydrolyse

Les lipides séchés sont hydrolysés avec 5ml de KOH alcoolique 0,5 N au bain-marie à 70°C pendant 30 min.

b)- Extraction des acides gras (PAQUOT et coll.1962)

La solution de savons est transvasée dans une ampoule à décanter, le ballon est rincé 2 fois avec 5 ml d'eau distillée. Dans le cas des esters du cholestérol, on extrait l'insaponifiable avec 10 ml d'éther de pétrole 45° 60°. Puis on procède à la libération et à la précipitation des acides gras en présence de SO_4H_2 N (ajouté à la goutte jusqu'à pH 3). Les acides gras sont ensuite extraits avec 2 fois 10 ml d'éther

éthylrique R.P. La solution éthérée est lavée 2 fois par 10 ml de solution de ClNa à 10 %, puis mise au froid sur sulfate de sodium anhydre. Le lendemain, la solution d'acides gras est concentrée puis transvasée dans des petits tubes. L'éther est complètement évaporé sous azote. Les tubes sont mis pendant 2 à 3 heures dans un dessiccateur contenant du P_2O_5 .

c)- Préparation des esters méthyliques

Nous avons utilisé la méthode employée dans le laboratoire du Pr CLEMENT à DIJON.

α) Préparation du diazométhane :

On utilise les réactifs suivants :

- solution 1-solution de potasse dans de l'alcool éthylique absolu (6,4 g de pastilles de KOH broyées dans 18 cm³ d'alcool absolu - préparée chaque fois)
- solution 2- CHCl_3 Merck 13 ml
 alcool absolu 25 ml
- solution 3-hydrazine 7,3 ml
 alcool absolu 25 ml

Ces 2 dernières solutions doivent être préparées tous les 15 jours.

La préparation du diazométhane se fait extemporanément. On met dans le ballon 9,5 ml de la solution 1 + 2,5 ml de la solution 3. On verse goutte à goutte 3,8 ml de la solution 2. On opère sous courant d'azote et le diazo se condense dans de l'éther éthylique (pour chromatographie) refroidi.

β) Méthylation :

On ajoute, aux acides gras secs, environ 1 ml de la solution de diazométhane ; on laisse en contact 1 h.30. Le diazométhane doit être en excès, ce qui est indiqué par une légère coloration de la solution ^{en fin} de méthylation. On chasse l'éther sous azote. On reprend les esters secs par environ 30 µl de butanol.

d)- Identification des acides gras par chromatographie en phase gazeuse.

On utilise un appareil HEWLETT PACKARD modèle 700. On emploie des colonnes métalliques de 6 pieds de long et 1/4 d'inch de diamètre. Le support inerte, du Diatoport S, est imprégné de D.E.G.S. silicisé au taux de 10 %. Le débit d'Hélium est de 50 ml/min. à la sortie des colonnes. Les températures sont réglées aux niveaux suivants :

- injecteur 245°C
- détecteur (à double ionisation de flamme)
250°C
- four 180°C

Dans ces conditions, on obtient une bonne séparation des différents acides gras : de l'acide myristique à l'acide arachidonique.

Ces acides gras sont identifiés grâce à des mélanges de référence (A.P.L.) contenant les esters recherchés.

On injecte à la microsiringue HAMILTON 1 à 4 μ l de solution d'esters correspondant à quelques γ d'esters.

On procède sur le graphique d'enregistrement à la triangulation et à la mesure des surfaces des pics. On exprime les proportions relatives des différents acides gras en faisant le pourcentage des surfaces de chaque pic par rapport à la surface totale des pics identifiés.

6°) Histologie

L'histologie a été faite dans le laboratoire du Pr. COMBESCOT à TOURS.

Au moment du sacrifice des animaux, on prélève les aortes, coeurs, reins, thyroïdes et surrénales. Ces divers organes sont fixés dans du BOUIN acétique et conservés en vue de leur étude histologique.

a)- Traitement et inclusion

On procède aux divers traitements suivants :

- 4 bains d'alcool éthylique à 80-90° puis absolu
 - 3 bains dans le toluène
 - puis passage dans la paraffine fondue à 50°C ;
- l'inclusion dans la paraffine se fait dans le 2ème bain. Chaque passage dure de quelques heures pour les petites pièces comme les surrénales, à deux jours pour les reins et les coeurs.

b)- Coupes

Les blocs d'inclusion après refroidissement, sont coupés à 7,5 μ d'épaisseur. On fait en moyenne 50 lames d'aorte, 50 lames de coeur, 10 lames de rein, 5 de surrénales et thyroïdes. Les coupes sont collées à l'eau albumineuse puis déparaffinées dans deux bains de 10 min., l'un de xylol, l'autre d'alcool absolu, puis réhydratées à l'eau distillée.

c)- Coloration

La coloration comporte un bain d'hématoxyline (30 min.), puis une différenciation dans une solution de carbonate de lithium. Après 2 rinçages à l'eau distillée, on procède à une coloration à l'éosine pendant 10 min., puis à nouveau, rinçage à l'eau distillée, puis à l'alcool absolu ; la coloration est faite finalement dans le sofran pendant 5 min., rinçage à l'alcool absolu, puis montage au baume et examen microscopique.

7°) Expression des résultats et comparaisons statistiques

Les valeurs numériques obtenues dans nos diverses séries expérimentales sont accompagnées de leur erreur standard $\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ (écart-type de la moyenne). C'est cet écart qui est porté sur les graphiques. La signification de la différence de 2 valeurs moyennes est établie par comparaison de leur différence à la racine de leur covariance. La probabilité est déterminée en fonction du coefficient "t" de STUDENT, pour le degré de liberté de l'ensemble des 2 distributions. Nous considérons qu'une différence est significative lorsque la probabilité d'identité est inférieure à 5 %.

CHAPITRE II

=====

CONDITIONS D'ENVIRONNEMENT et DE RÉGIME

1°) Température d'adaptation

Les rats utilisés sont des rats mâles Long Evans, adaptés à 5°C, 20°C et 30°C $\pm 1^\circ\text{C}$, à l'âge de 8 semaines environ. Pendant toute la durée de l'expérimentation, l'éclairage est maintenu constant 12 h sur 24 h. L'humidité relative varie de 50 à 80 %.

2°) Régimes (tableau I)

Des essais préliminaires nous ont permis de préciser les quantités de vitamines nécessaires à un développement optimum de nos animaux.

Pour permettre une bonne reproductibilité de la composition des régimes, nous avons adopté des régimes semi-synthétiques où l'apport lipidique est constitué essentiellement par du saindoux, les protéines par de la caséine et les glucides par du saccharose.

Deux régimes hyperlipidiques à 30 % de lipides (RA et RAC) ont été utilisés ; le deuxième est surchargé de 2 % de cholestérol. Leurs effets ont été comparés à ceux d'un régime témoin (T) (biscuit commercial CNRZ) au début de notre

TABLEAU 1 - REGIMES - SERIE III - COMPOSITION POUR 100 CALORIES

	TA	TAS	TS	TF	RA	RAC
Saindoux	1,14	1,14	1,13	1,13	6,43	6,43
Caséine	9,05	9,05	9,03	9,03	6,86	6,86
Amidon maïs	15,72	8,51	0	0	0	0
Saccharose	0	6,21	13,56	0	4,71	4,71
Fructose	0	0	0	13,56	0	0
Lait écrémé sec	0,86	0,86	0,85	0,85	0,86	0,86
Linoleate de Ca 50 %	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Levure	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Mélange vitaminique	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Mélange minéral	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07
Choline	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Cellulose	1,41	1,41	1,35	1,35	1,41	1,41
Cholestérol	0	0	0	0	0	0,45

Mélange minéral 1 kilo

Phosphate de sodium monosodique	151 g
Chlorure de sodium	103 g
Sulfate de magnésium cristallisé	221 g
Phosphate de potassium bipotassique	227 g
Phosphate de calcium monocalcique	205 g
Lactate de fer	27 g
Lactate de Ca	64,80 g
Iodure de potassium	0,702 g
Sulfate de manganèse	0,091 g
Fluorure de sodium	0,034 g
Alun de potassium	0,108 g

Mélange vitaminique

Aneurine	0,88 g
Riboflavine	0,88
Acide nicotinique	1,32
Pyridoxine	0,88
Vit. B ₁₂	0,00088
Acide folique	0,088
Biotine	0,088
Pantothenate Ca	4,400
Vit. A acétate	0,088
Vit. D ₂ ergocalciférol	0,0108
Vit. E DL α tocophérol acétate	13,20
Meso inositol	38,60
On complète avec de l'Agar-Agar en poudre jusqu'à	1012 g.

expérimentation (1ère série). Par la suite, nous avons utilisé un régime semi-synthétique à 5 % de lipides (TS) (2e série). Dans une 3ème série, ces divers régimes ont été additionnés de cellulose ; de plus, l'apport en vitamines, acides gras essentiels et minéraux a été réajusté de manière à ce qu'il soit proportionnel au pouvoir calorique du régime et non à son poids.

Enfin, dans une 4ème série, nous avons fait varier la nature des glucides du régime témoin en introduisant soit du fructose, soit de l'amidon (régimes TA, TS, TAS, TF).

Les régimes semi-synthétiques sont fabriqués au laboratoire chaque semaine et conservés dans des récipients étanches à une température de 5°C.

Les rats sont mis aux divers régimes après 3 semaines d'adaptation à la température. Ils sont nourris ad libitum et les ingesta sont contrôlés par pesée des restes.

CHAPITRE III

=====

EFFETS PHYSIOLOGIQUES DE LA TEMPÉRATURE ET DU RÉGIME

1°) Mortalité

La mortalité des animaux est faible avec tous les régimes. Après un an d'adaptation, 16 % des rats sont morts à 30°C et 27 % au froid. Le plus gros déchet a été obtenu chez les animaux nourris avec le régime RAC.

2°) Croissance (fig. 2)

Les rats sont pesés chaque semaine et les courbes de croissance établies, jusqu'à l'âge de 12 mois, sur chaque série expérimentale.

Les courbes de croissance font apparaître les points suivants :

- la prise pondérale des rats adaptés au froid est inférieure à celle des animaux maintenus à 30°C.

- aux 2 températures d'élevage et, par rapport aux régimes témoins, les régimes hyperlipidiques, favorisent la prise de poids des animaux.

- chez les rats adaptés à 30°C, la nature des glucides du régime n'agit pas significativement sur la vitesse de croissance (fig. 2').

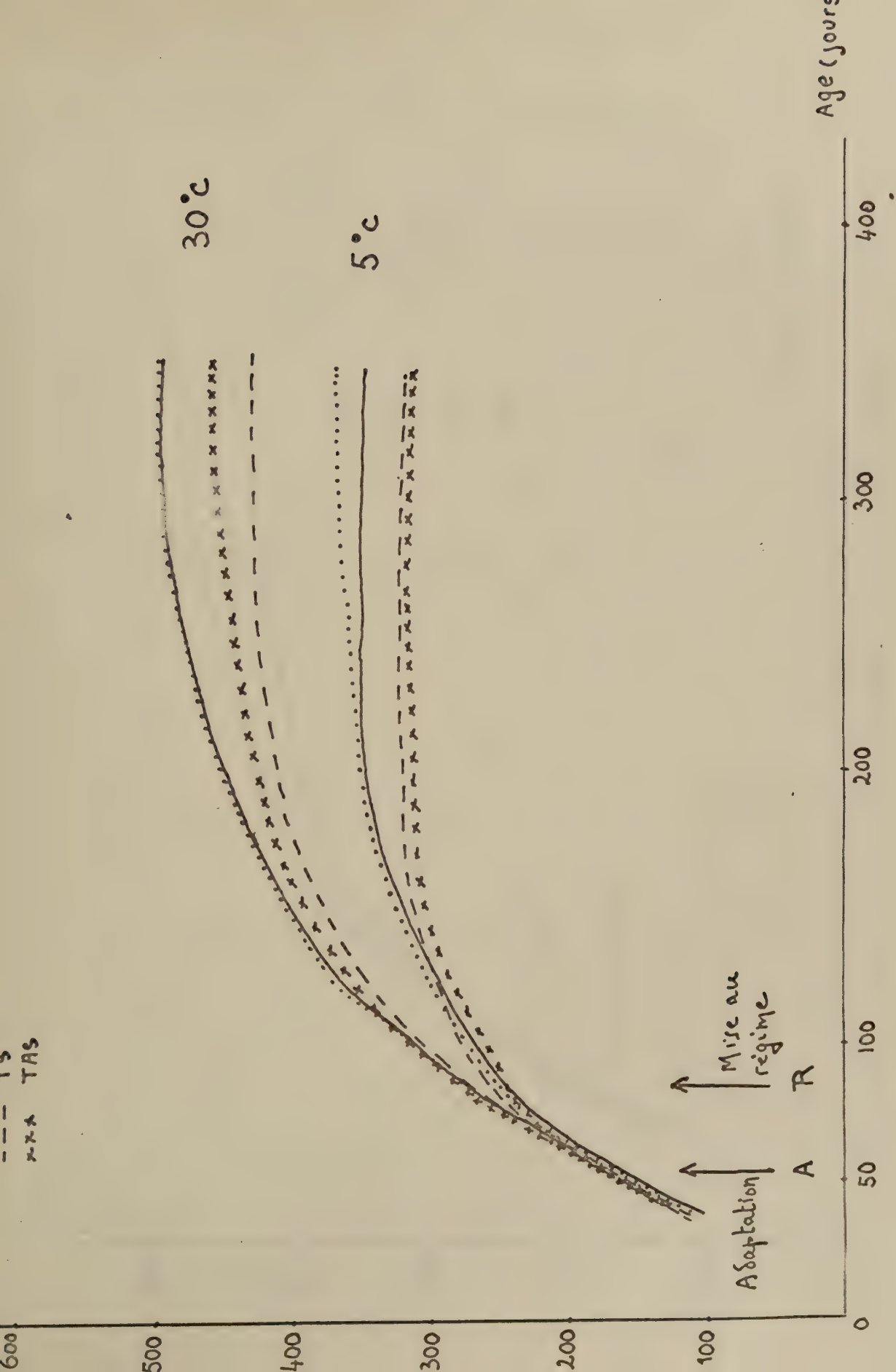


FIGURE 2 : Courbes de croissance des rats adaptés à 5°C et 30°C et soumis aux divers régimes -

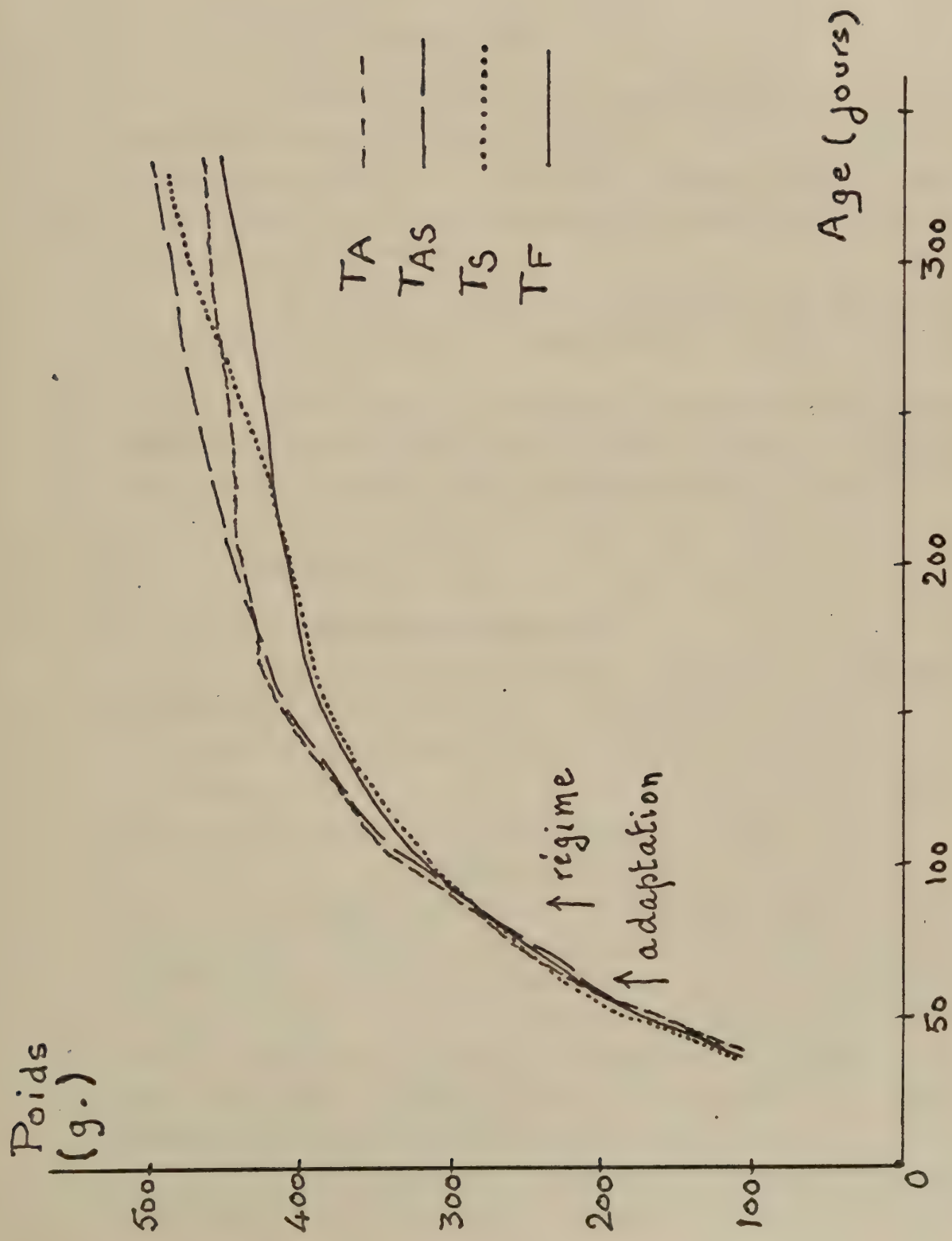


FIGURE 2': Courbes de croissance des rats adaptés à 30°C et soumis aux divers régimes T différent par

3°) Etude de l'utilisation énergétique des divers régimes

A) Conditions de mesure

Les mesures de l'absorption calorique et de la dépense énergétique, ainsi que celles de l'utilisation des lipides alimentaires ont été faites pendant tout le 1er mois d'adaptation aux régimes ainsi qu'au 9ème mois sur les rats adaptés à 5°C et 30°C.

La valeur calorique des ingesta et des excréta, la consommation d'oxygène, l'ingestion et l'excrétion lipidiques ont été mesurées.

Nous avons, également, déterminé l'importance relative des réserves lipidiques contenues dans la carcasse de ces mêmes rats et soumis aux régimes pendant 12 mois.

B) Résultats

1)- Ingestion calorique

Pendant le 1er mois de régime, les rats absorbent en moyenne, par 24 heures : (tableaux 3 et 3') :

régime RA et RAC : 11,4 g à 30°, 17,3 g à 5°C

régime TS : 15 g à 30°, 24,4 g à 5°C

ce qui correspond à 230 Cal/kg/24 h. à 30°C

et 430 Cal/kg/24 h. à 5°C.

L'ingestion calorique des rats élevés à 5°C est, donc, presque doublée par rapport à celle des animaux vivant à 30°C. Pour les deux températures, elle ne varie pas avec le régime. Par contre, on observe une diminution de l'ingestion en fonction du temps d'adaptation : au 9ème mois de maintien au régime et par rapport au 1er mois, cette diminution atteint 32 % à 5°C et 39 % à 30°C.

Ces variations traduisent certainement une diminution des besoins caloriques journaliers du rat. On peut attri-

buer cette diminution soit au vieillissement, soit à l'accoutumance aux divers régimes et à une meilleure assimilation. C'est pour vérifier cette dernière possibilité que nous avons étudié l'utilisation des lipides alimentaires au cours du 1er et du 9ème mois de régime et effectué parallèlement des mesures des échanges respiratoires et du Q.R.

2)- Dépense calorique - Mesure des échanges respiratoires

a) Mesure du métabolisme à 5°C et 30°C

Ces mesures ont été faites en utilisant l'appareil de CARLO ERBA (déjà décrit).

Les échanges respiratoires exprimés en $\text{Cal/m}^2/\text{h}$ sont également plus élevés chez les rats adaptés au froid (tableau 2). Il n'a pas été observé de diminution des échanges au cours du temps. Il n'apparaît donc pas, au cours du vieillissement des rats, de diminution des dépenses caloriques, alors que l'ingestion calorique diminue du 1er mois au 9ème mois, de façon significative pour tous les groupes d'animaux et que la prise de poids est ralentie depuis le 3ème mois de régime.

On peut donc penser que, dans notre expérience, l'expression de la dépense énergétique en fonction de la surface ne convient pas. En effet, l'application de la loi des surfaces pour la comparaison des dépenses énergétiques de rats de poids assez différents peut être critiquée. La déperdition calorique est en effet proportionnelle à la surface de déperdition réelle qu'il est très difficile d'estimer. De plus, les mesures de métabolisme énergétique faites sur une courte durée ne sont pas nécessairement représentatives des dépenses caloriques quotidiennes de l'animal. C'est pourquoi nous avons fait sur des rats, adaptés depuis 6 mois aux divers régimes,

30° C						5° C					
Régime	Durée régime	Age	Poids moyen	Cal/m ² /h	QR	Régime	Durée régime	Age	Poids moyen	Cal/m ² /h	QR
TS	1 mois	4 mois	321	37,5 ± 1,1	0,91 ± 0,02	TS	1 mois	4 mois	264	85,3 ± 1,9	0,85 ± 0,02
	9 mois	12 mois	460	37,7 ± 0,8			9 mois	12 mois	350	77,2 ± 8,0	
RA	1 mois	4 mois	322	35,7 ± 1,0	0,84 ± 0,02	RA	1 mois	4 mois	273	86,7 ± 4,1	0,80 ± 0,02
	9 mois	12 mois	445	34,8 ± 1,0			9 mois	12 mois	385	75,1 ± 2,8	
RAC	1 mois	4 mois	346	36,1 ± 1,0	0,84 ± 0,02	RAC	1 mois	4 mois	240	87,0 ± 2,4	0,81 ± 0,01
	9 mois	12 mois	472	37,8 ± 2,5			9 mois	12 mois	319	86,2 ± 4,0	

TABEAU 2 - MÉTABOLISME RESPIRATOIRE AU COURS DES PREMIER ET NEUVIÈME MOIS DE RÉGIME

des mesures du métabolisme énergétique sur 4 jours consécutifs.

b) Mesure continue de la dépense énergétique journalière

L'installation utilisée fonctionne en circuit fermé sur le type BENEDICT et permet l'enregistrement en continu de la consommation en O_2 sur le nyctémère. Pour ces expériences, les animaux sont maintenus dans leurs conditions habituelles d'élevage et de nutrition.

Dans ces conditions, nous trouvons des valeurs plus élevées que les précédentes, mais identiques pour tous les régimes : 40 à 42 Cal. à $30^{\circ}C$, 93 à 95 Cal. à $5^{\circ}C$. Ces différences s'expliquent par le fait que les animaux étaient maintenus dans la 1ère série expérimentale à un jeûne de 2 à 3 heures. De plus ces expériences ont été faites pendant le jour ; or, il ressort des enregistrements nycthémeraux que, chez les rats maintenus à $30^{\circ}C$, la consommation d' O_2 est plus faible le jour que la nuit.

Ces mesures ont permis la détermination du QR moyen nycthémeraux des rats. Les valeurs trouvées pour le régime TS à faible taux de lipides sont, significativement, supérieures à celles obtenues avec les régimes hyperlipidiques. Les rats adaptés à $30^{\circ}C$ présentent, avec le régime TS, un QR élevé : 0,93 ; ce QR est abaissé chez ceux adaptés au froid : 0,85. De même avec les régimes hyperlipidiques ; le Q.R. obtenu est plus faible à $5^{\circ}C$ qu'à $30^{\circ}C$: 0,80 contre 0,84. Cette diminution du Q.R. observée chez les adaptés au froid appelle quelques commentaires : on obtient, en effet, avec le régime pauvre en lipides, un Q.R. identique à celui des adaptés à $30^{\circ}C$ soumis aux régimes hyperlipidiques. L'utilisation préférentielle des lipides ingérés par l'animal placé au froid ne peut pas expliquer cet abaissement puisque le taux de lipides est faible. On peut l'expliquer par une utilisation des lipides

Régime	Durée du régime	Poids moyen	Quantité régime /j./g.	lipides ingérés /j. (g.)	Lipides ingérés /rat/kg(g.)	Calories ingérées /kg/j.	Poids fèces /j. (g.)	% Lipides fèces	Lipides excrétés /j. (mg)	C.U.D. %
TS	1 mois	291	15,1 ±1,4	0,76 ±0,04	2,61 ±0,12	229 ±3,2	0,95 ±0,07	3,25 ±0,55	30,2 ±5,4	96
	9 mois	460	16,3 ±0,6	0,82 ±0,03	1,8 ±0,05	156 ±2,8	0,96 ±0,07	2,29 ±0,20	21,5 ±1,9	97
RA	1 mois	293	11,4 ±0,5	3,44 ±0,16	12,1 ±0,5	224 ±3,0	0,94 ±0,05	20,7 ±1,4	196 ±20	94
	9 mois	465	11,6 ±1,1	3,50 ±0,32	7,5 ±0,6	144 ±6,2	0,66 ±0,02	13,05 ±0,55	86 ±3,9	97
RAC	1 mois	291	11,4 ±0,06	3,49 ±0,19	12,2 ±0,7	230 ±3,8	1,18 ±0,09	34,2 ±2,10	402 ±33	88
	9 mois	472	9,7 ±0,6	2,95 ±0,40	8,4 ±0,4	120 ±3,7	0,83 ±0,02	25,3 ±1,03	213 ±2,5	93

Tableau 3 . Ingestion calorique et utilisation digestive des

lipides au cours du 1er et du 9ème mois de maintien aux régimes(30°C)

Régime	Durée du régime	Poids moyen	Quantité régime /j./g.	Lipides ingérés /j./g.)	Lipides ingérés /rat/kg(g)	Calories ingérées /kg/j.	Poids fèces /j. (g)	% Lipides fèces	Lipides excrétés /j. (mg)	C.U.D. %
Ts	1 mois	239	24,4 ±0,7	1,23 ±0,03	5,2 ±1,5	450 ±3,2	1,55 ±0,07	1,89 ±0,17	29,8 ±3,5	97
	9 mois	350	24,9 ±1,1	1,25 ±0,05	3,8 ±0,3	316 ±5,1	1,22 ±0,05	1,55 ±0,13	19,2 ±1,9	98
RA	1 mois	243	17,1 ±1,2	5,11 ±0,41	21,1 ±1,7	407 ±6,7	1,41 ±0,5	19,40 ±0,67	277 ±27	94,5
	9 mois	385	18,7 ±0,6	5,66 ±0,18	14,7 ±1,3	281 ±3,6	1,35 ±0,03	14,26 ±1,08	191 ±12	97
RAC	1 mois	235	17,6 ±0,9	5,37 ±0,27	24,7 ±0,7	437 ±4,1	1,85 ±0,09	34,20 ±1,4	658 ±42	88
	9 mois	319	17,2 ±1,7	5,24 ±0,21	16,4 ±1,1	315 ±3,9	1,61 ±0,06	29,66 ±0,50	478 ±22	91

Ingestion calorique.et

Tableau 3' . Utilisation digestive des lipides au cours
du 1er et du 9ème mois de maintien aux régimes. (5°C)

synthétisés à partir des glucides du régime. Cet accroissement de la lipogénèse pourrait être une voie métabolique caractéristique de la thermogénèse de réchauffement.

3)- Utilisation digestive des lipides alimentaires
(tableaux 3 et 3')

Comme pour l'ingestion calorique, on observe une diminution de l'ingestion lipidique au cours du temps, ainsi qu'une diminution de la teneur des fécès en lipides. Le coefficient d'utilisation digestive est élevé pour le régime témoin (97 à 98 %) ; il ne varie pas au cours du temps. Pour les régimes hyperlipidiques, le coefficient est augmenté au bout du 9ème mois de régime et atteint, pour le régime RA, une valeur voisine de celle trouvée pour le régime T. Dans le cas d'une surcharge en cholestérol, l'utilisation digestive des lipides est moins bonne ; ce fait est dû à une excrétion fécale importante de stérols (plus grande au froid qu'au chaud).

4)- Mesure des réserves lipidiques - Dosage des lipides de la carcasse (fig. 3)

Les rats adaptés à 30°C accumulent, dans leur carcasse, une quantité de lipides 2 à 3 fois supérieure à celle des rats adaptés au froid (70 à 110 g à 30°C, 21 à 57 g à 5°C). Aux deux températures d'élevage, lorsque les animaux sont nourris avec le régime hyperlipidique additionné de cholestérol (RAC), la teneur en lipides de la carcasse est plus faible que celle des animaux recevant les autres régimes (8 % à 5°C, 17 % à 30°C). Il est à remarquer qu'à l'époque du sacrifice (1 an de régime), ces rats ne sont pas bien portants et ont maigri. Ils présentent, à l'autopsie, une stéatose hépatique importante qui doit, certainement, perturber leur métabolisme.

La différence de poids entre les rats adaptés à 5°C et 30°C n'est pas entièrement due à une différence de teneur

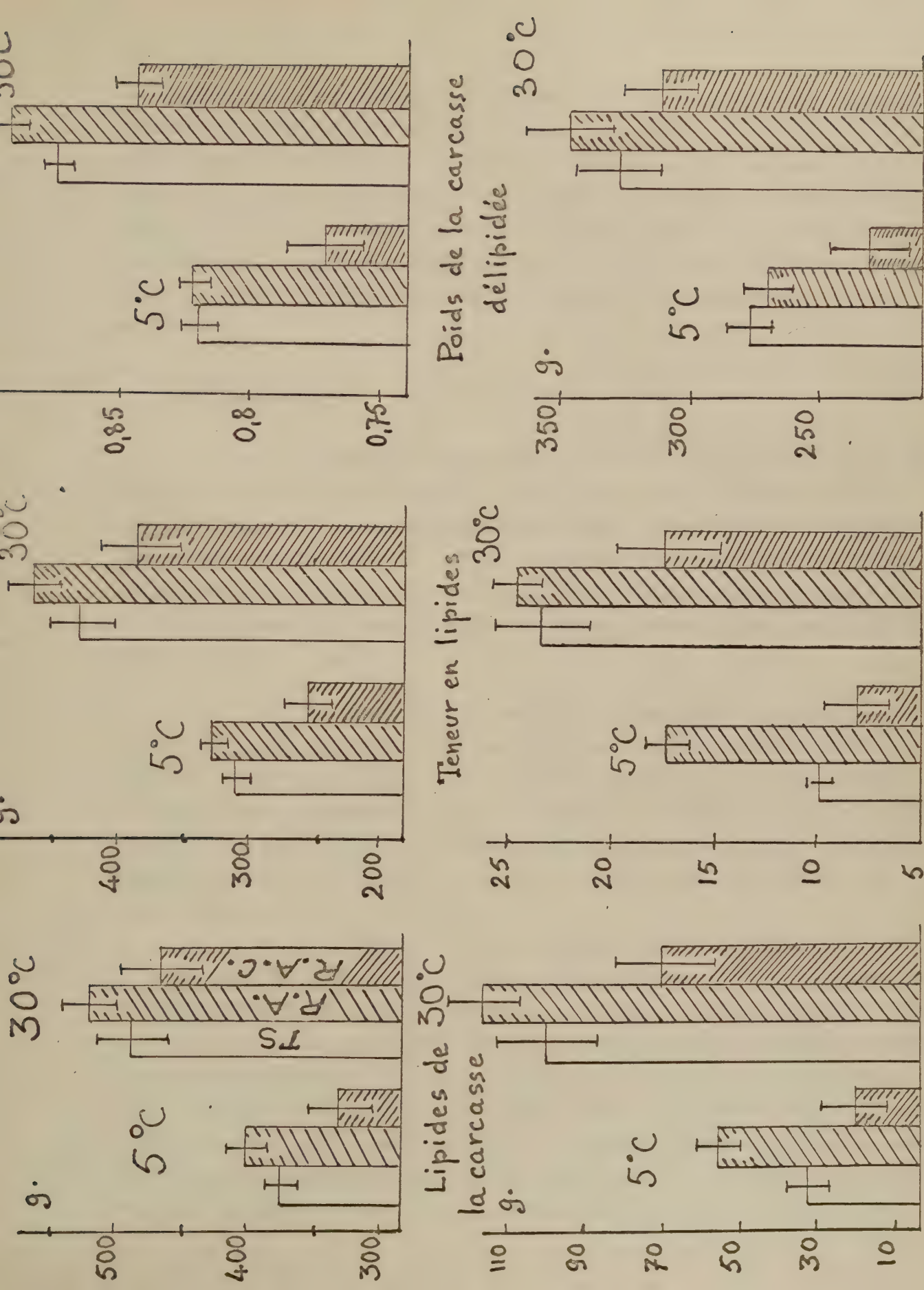


FIGURE 3. LIPIDES DE LA CARCASSE

en lipides de la carcasse. L'intervention des lipides dans ce phénomène varie d'importance selon le régime : 63 % pour TS, 49 % pour RA et 37 % pour RAC. Le poids de la carcasse délipidée reste significativement inférieure chez les rats adaptés à 5°C et sa teneur en eau ne varie pas. Il y aurait, véritablement, chez les adaptés au froid, un ralentissement de la croissance qui aboutit à un moindre développement du rat adulte.

C) Conclusion

a)- Le métabolisme respiratoire des rats adaptés au froid (5°C) est le double de celui des rats vivant à 30°C. L'accroissement de la thermogénèse chez les animaux adaptés à des températures basses a été observé depuis longtemps chez de nombreuses espèces animales. Chez le rat Long Evans, il a été précisé, ces dernières années, au laboratoire par CHEVILLARD et coll. (1962).

b)- La croissance pondérale des rats adaptés à 5°C est inférieure à celle des animaux maintenus à 30°C. Ces résultats sont en accord avec ceux des auteurs qui ont étudié l'adaptation au froid ; nous citerons : EMERY et coll. (1940), SELLERS et coll. (1954), DESMARAIS et GAGNON (1955), HART et HEROUX (1956), HARRISON et coll. (1959), HEROUX (1961), et CHEVILLARD et coll. (1963).

La différence de poids entre les rats adaptés à 5°C et 30°C ne peut être expliquée qu'en partie par la diminution des réserves lipidiques observée au froid. HEROUX (1958) trouve chez les animaux adaptés au froid une déficience de l'assimilation protéique. Pour cet auteur, la prise de nourriture n'est jamais suffisante, au froid, pour permettre un développement musculaire normal. Mais des expériences de bilans azotés faites au laboratoire, ont montré que l'assimilation azotée est du même ordre de grandeur à 5°C et 30°C.

c)- Aux deux températures d'élevage, la surcharge lipidique alimentaire est bien tolérée. Le C.U.D. des lipides s'améliore encore après une longue période de maintien au régime.

Cette bonne tolérance se traduit par une prise de poids des rats soumis à ces régimes, supérieure à celle des rats recevant des régimes à faible taux de lipides. Or les ingesta caloriques sont les mêmes pour tous les régimes ; il y aurait donc, à taux d'ingestion calorique égal, une prise de poids supérieure avec les régimes riches en lipides. Les effets bénéfiques des régimes hyperlipidiques sur la croissance et la survie des rats adaptés à basses températures ont été étudiés par PAGE (1953) puis par LEBLANC (1957). Ce dernier démontre qu'il faut attribuer la supériorité des régimes riches en graisse à une augmentation de la chaleur produite, plutôt qu'à une meilleure protection par une couche de graisse périphérique plus importante, ainsi que l'avancait PAGE.

Au froid, les valeurs obtenues pour le Q.R. confirment l'utilisation préférentielle des lipides qui seraient de bons substrats pour la lutte contre le froid, hypothèse déjà avancée par KAYSER (1937) sur le cobaye et CHENIER (1954), HART et HEROUX (1956) et PAGE (1957) sur le Rat. A 30°C, par contre, une partie des lipides absorbés est stockée sous forme de réserves adipeuses deux fois plus abondantes que celles des rats adaptés au froid.

4°) Pression artérielle (tableau 4)

La pression artérielle et le rythme cardiaque ont été mesurés sur l'animal non anesthésié, après 6 mois de maintien aux régimes T, RA et RAC.

Tableau 4 : Pression artérielle des Rats adaptés à 5° et 30° C

	5° C			30° C		
	Pression Moyenne (cm/Hg.)	Pression Maxima (cm/Hg.)	Rythme Cardiaque (puls./min.)	Pression Moyenne (cm/Hg.)	Pression Maxima (cm/Hg.)	Rythme Cardiaque (puls./min.)
Témoins biscuits C.N.R.Z.	12,0 ± 0,7	17,7 ± 1,3	341 ± 18	10,1 ± 1,0	14,0 ± 0,9	304 ± 16
Régime II R.A.	11,0 ± 0,9	16,0 ± 1,6	373 ± 28	9,2 ± 1,4	13,9 ± 1,2	318 ± 18
Régime II R.A.+C.	11,8 ± 1,2	17,6 ± 1,3	371 ± 18	11,5 ± 1,6	15,6 ± 1,0	312 ± 18

Les valeurs moyennes sont accompagnées de leur erreur standard pour $P = 0,05$

Chaque échantillon comporte 5 animaux, les valeurs individuelles étant la moyenne de 4 mesures.

La pression artérielle est plus élevée chez les rats adaptés au froid et augmente encore (mais non significativement) lorsqu'on ajoute du cholestérol au régime RA.

Le rythme cardiaque est significativement augmenté chez les rats adaptés au froid.

CHAPITRE IV

=====

EFFETS DE LA TEMPÉRATURE D'ADAPTATION ET DES RÉGIMES SUR LES CONSTITUANTS LIPIDIQUES DE L'ORGANISME

Des dosages des lipides du sérum et de différents organes ont été faits afin de déterminer s'il se produit des modifications du métabolisme des lipides dans nos diverses conditions de régime et de température d'adaptation (5°C, 30°C, 20°C - Régimes T biscuit, RA et RAC).

1°) Variation de la cholestérolémie et de la phospholipidémie

Les taux du cholestérol et du phosphore sériques ont été déterminés après 6 mois de maintien au régime (T biscuit CNRZ, RA et RAC) -(Fig. 4).

Les résultats de ces dosages font apparaître que lorsque les rats sont soumis à un régime hyperlipidique (30 %), les diverses formes de cholestérol et les phospholipides sanguins sont significativement augmentés. Les taux d'augmentation les plus faibles sont observés à 30°C.

Quand du cholestérol (2 %) est ajouté au régime hyperlipidique (RAC), les augmentations du cholestérol sérique libre et estérifié sont voisines chez les rats élevés à 20°C et 30°C. Chez les animaux adaptés à 5°C, l'augmentation du cholestérol libre est 2 fois plus grande que celle du cholestérol

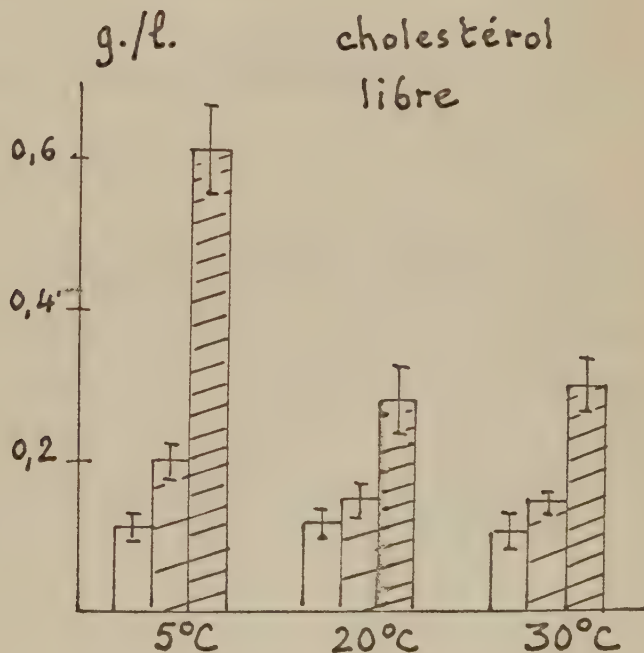
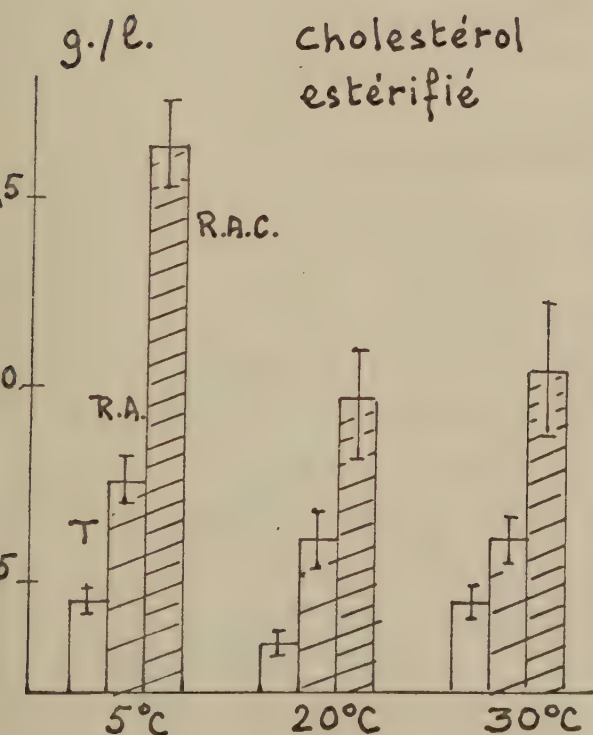
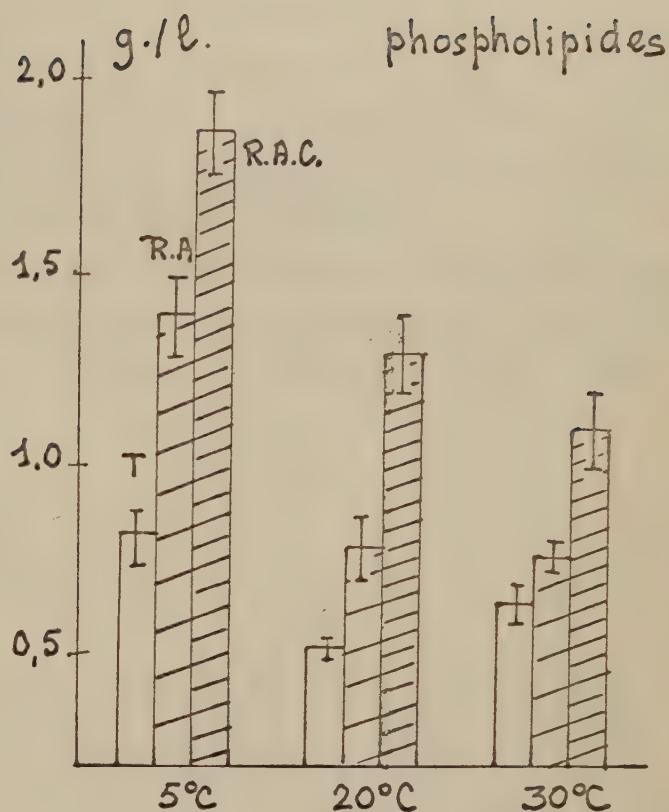
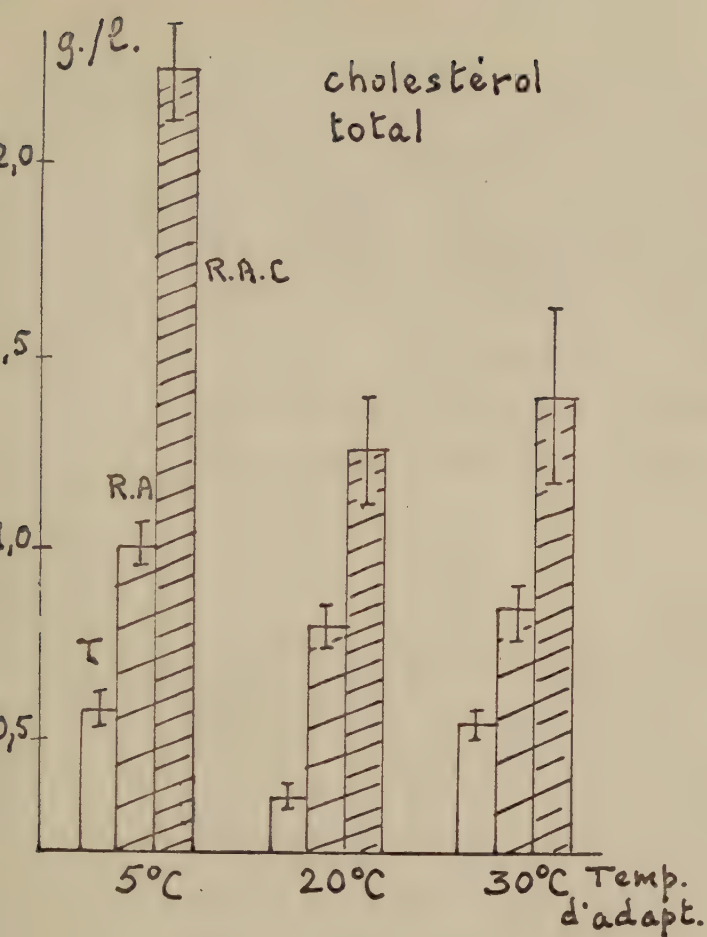


FIGURE 4: Cholestérol et phospholipides sériques

térol estérifié. Par contre, pour cette même température d'élevage, l'augmentation du taux des phospholipides est 4 fois plus faible que celle du cholestérol, alors qu'elle est du même ordre de grandeur aux 2 autres températures. Il en résulte une augmentation du rapport $\frac{\text{cholestérol}}{\text{phospholipides}}$.

En conclusion, les taux de cholestérol et de phospholipides sériques, sont augmentés par l'adaptation au froid et par la surcharge du régime en lipides et surtout en cholestérol.

2°) Etude des lipoprotéines sériques

Dans une deuxième série expérimentale, nous avons utilisé un nouveau régime témoin semi-synthétique, contenant 5 % de lipides et dont les composants sont identiques à ceux des 2 régimes hyperlipidiques. Dans ces conditions, nous avons, après 4 à 6 mois de régime, séparé les α et β lipoprotéines sériques et dosé leur teneur en cholestérol chez des rats adaptés à 5°C et 30°C, à jeun, pendant 15 heures.

A) Etude du lipidogramme - Test de Burstein

1)- Lipides totaux sériques

Le taux des lipides totaux circulant ($\alpha + \beta$ lipoprotéines) est sensiblement le même chez les rats recevant les 2 régimes T et RA, contenant respectivement 5 % et 30 % de lipides. Avec ces 2 mêmes régimes, le taux de lipides totaux n'est pas significativement différent entre 5°C et 30°C. Par contre, la surcharge en cholestérol augmente significativement les lipides totaux de 50 % à 30°C et 100 % à 5°C. (fig. 5).

2)- α et β lipoprotéines - (fig. 5)

Avec les régimes T et RA, les taux des α lipoprotéines sont supérieurs à ceux des β lipoprotéines et sont identiques à 5°C et 30°C. Le rapport α/β a pour valeur 1,8 à 30°C et 3,0 à 5°C. Aux deux températures, l'administration de cholestérol dans le régime augmente de 2 à 3 fois la quantité de β lipoprotéines circulantes et provoque une diminution du rapport α/β jusqu'à 1 et 1,5. Les résultats obtenus sur les variations des β lipoprotéines sont confirmés par le test de BURSTEIN (fig. 5').

B) Etude de la teneur en cholestérol des α et β lipoprotéines séparées par la méthode de BURSTEIN (fig. 5').

Aux deux températures d'élevage et avec les régimes non additionnés de cholestérol, les α lipoprotéines transportent plus de cholestérol que les β lipoprotéines (70 à 80 % du cholestérol total). La teneur en cholestérol des α est augmentée par l'adaptation au froid et varie peu quand on ajoute du cholestérol au régime, par contre, celle des β est doublée à 30°C et triplée à 5°C.

Le rapport E/T (estérifié /total) du cholestérol de la fraction β , est, chez les rats adaptés à 30°C et soumis aux régimes T et RA, plus faible que chez ceux adaptés au froid ; ce rapport diminue avec le régime RAC chez ces derniers. Cependant, aucune de ces différences n'est significative, ce qui est dû à la grande dispersion des valeurs obtenues pour le rapport E/T.

C) Conclusion

Les techniques d'électrophorèse sur papier et de séparation par le sulfate de dextrane nous ont permis d'établir quelques caractéristiques de composition en lipides et choles-

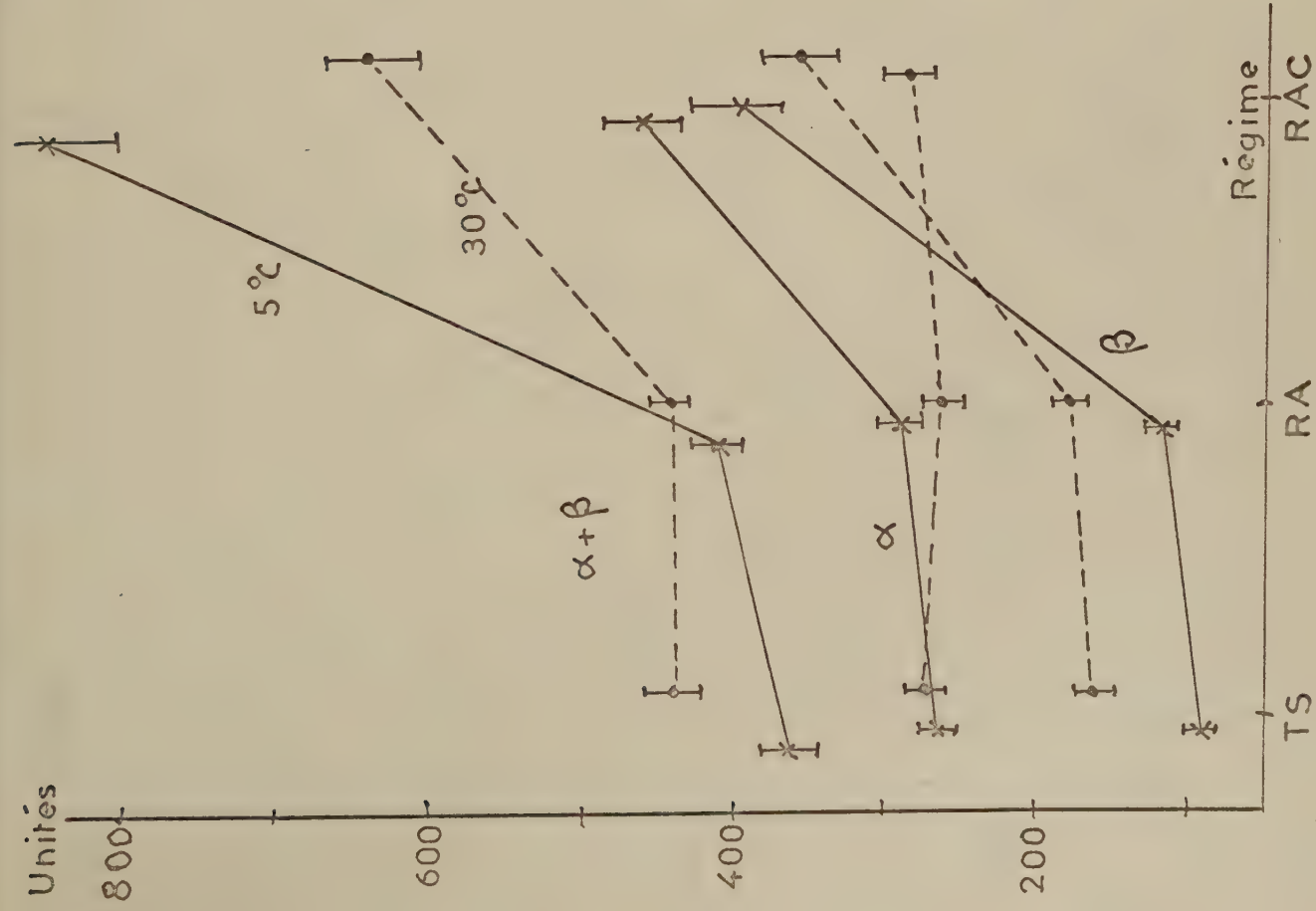
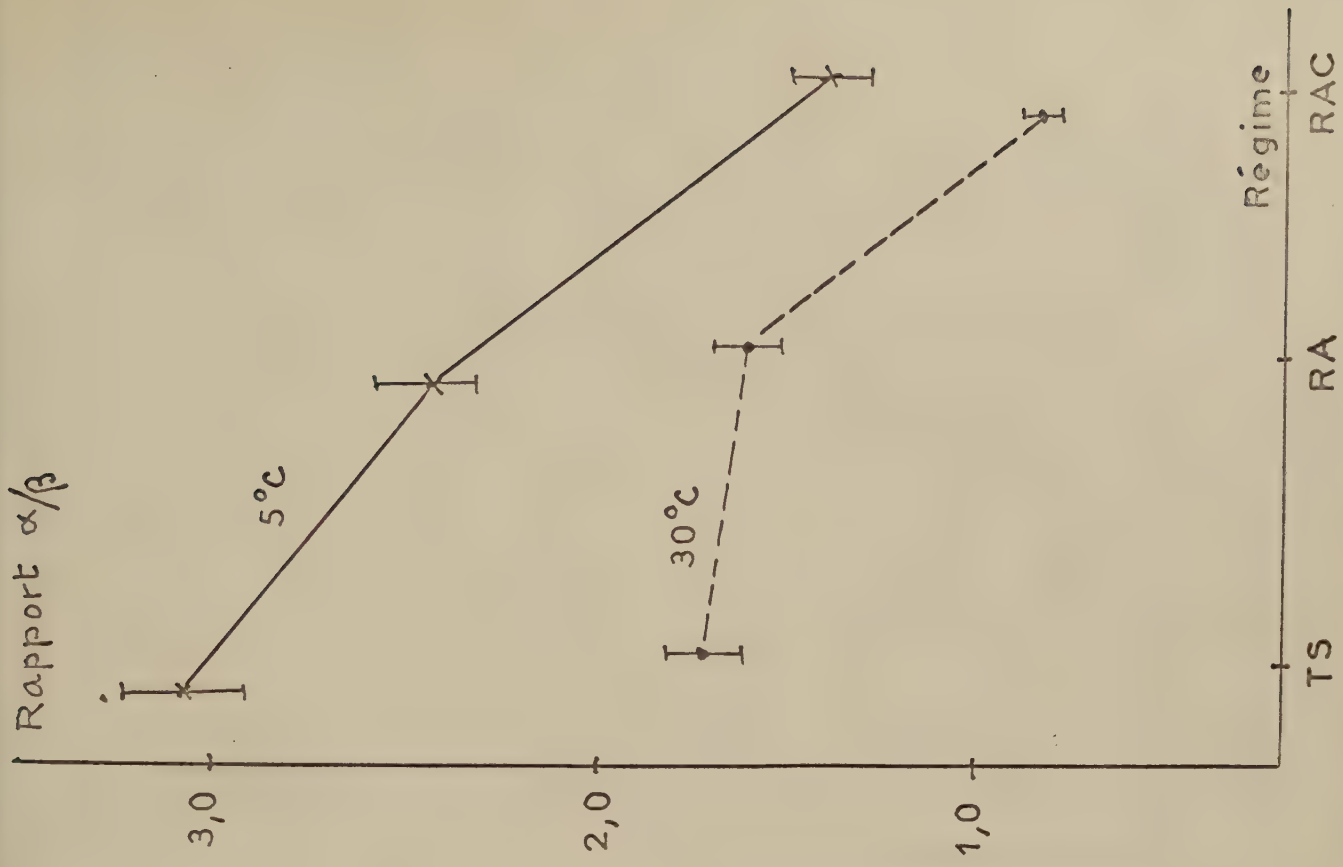


FIGURE 5': LIPIDOGRAMME

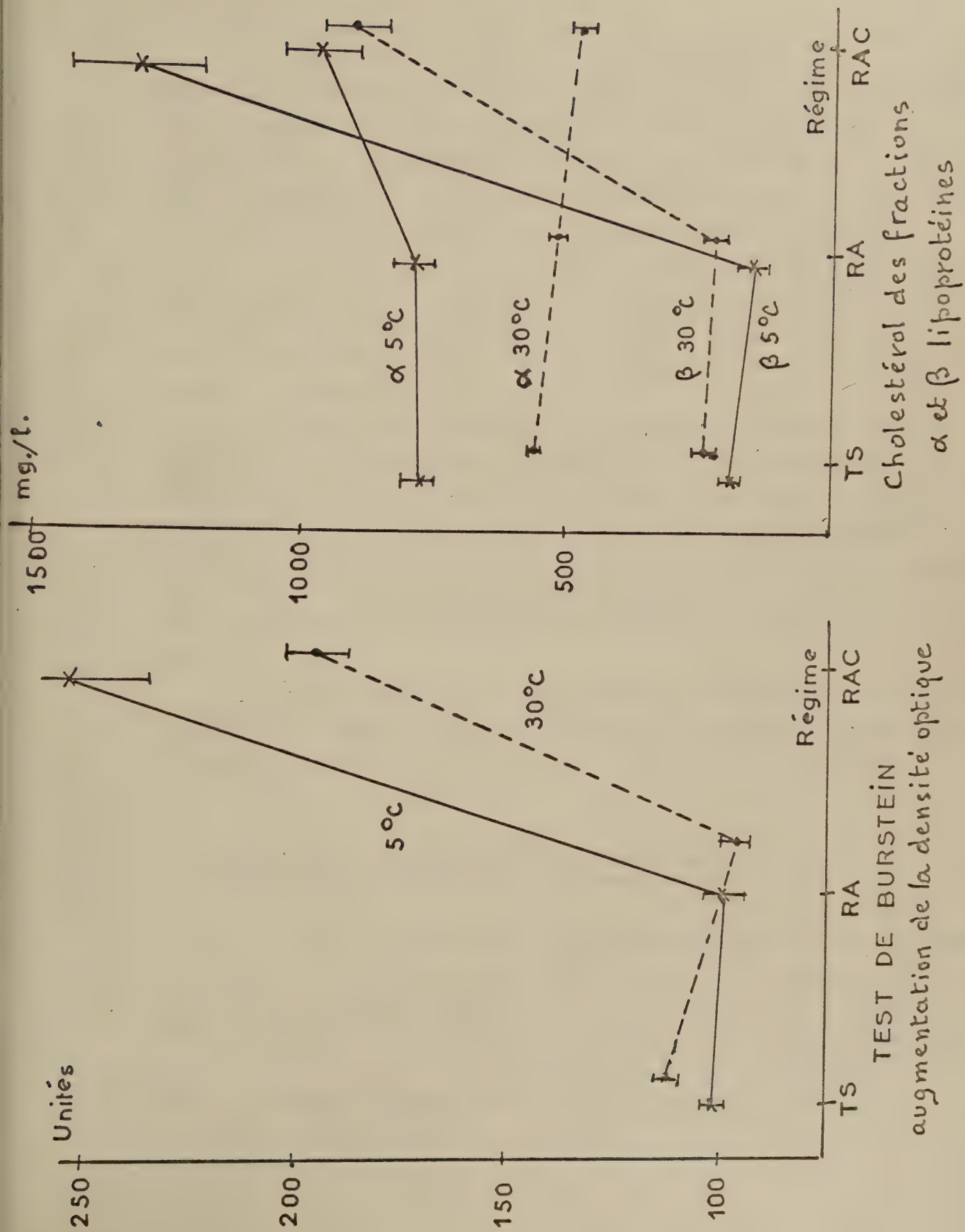


FIGURE 5': Lipoprotéines sériques

térol des lipoprotéines sériques chez le Rat Long Evans.

Quand les régimes ne sont pas additionnés de cholestérol, la quantité d' α lipoprotéines est plus grande que celle des β lipoprotéines. Les lipoprotéines de forte densité (α) ont une teneur en cholestérol plus élevée (70 %) que celle de faible densité (β) (30 %). Ces résultats sont en accord avec ceux de MIETTINEN (1957) obtenus par électrophorèse.

Le remplacement, dans le régime, de 21 % de saccharose par une égale proportion de saindoux (Régime RA), ne fait varier ni les lipides totaux, ni le cholestérol, ni les taux respectifs des α et β lipoprotéines et leur teneur en cholestérol.

Aux deux températures d'élevage, l'adjonction de cholestérol au régime ne change pas la teneur en cholestérol des α lipoprotéines, mais provoque une augmentation significative du taux de cholestérol lié aux β lipoprotéines, plus grande chez les rats adaptés au froid. Le cholestérol exogène serait donc transporté par la fraction β lipoprotéinique et, principalement, sous forme non estérifiée (diminution du rapport E/T).

Par contre, quel que soit le régime utilisé, sous l'effet du froid, la teneur en cholestérol des α lipoprotéines est augmentée.

3°) Composition lipidique de certains organes

Lors du sacrifice des animaux, après un an environ de maintien au régime, les reins, le foie, la graisse brune interscapulaire, la thyroïde et les surrénales ont été pesés. Nous avons, de plus, étudié la composition lipidique des organes et tissus qui interviennent dans la lipogénèse : le foie, le tissu adipeux brun interscapulaire et le tissu adipeux blanc épидидymal.

A) Poids des organes (Fig. 6)

La masse relative du foie, des reins et de la graisse brune interscapulaire calculée en fonction du poids corporel augmente quand la température d'élevage diminue. Le poids des surrénales est également augmenté à 5°C chez les animaux nourris avec le régime T.

Pour les 3 températures d'élevage, on observe essentiellement un effet du régime additionné de cholestérol (RAC) sur le poids des surrénales et du foie qui sont augmentés aux 3 températures, et des reins (seulement à 5°C et 20°C).

L'accroissement de la masse des surrénales est, nous le verrons plus loin, lors des examens histologiques, dû à une infiltration lipidique très importante de ces glandes. Les reins montrent également, avec ce régime, une altération de leur structure cellulaire. Quant aux foies, ils présentent, d'une façon constante, une stéatose.

B) Composition (tableau 5)

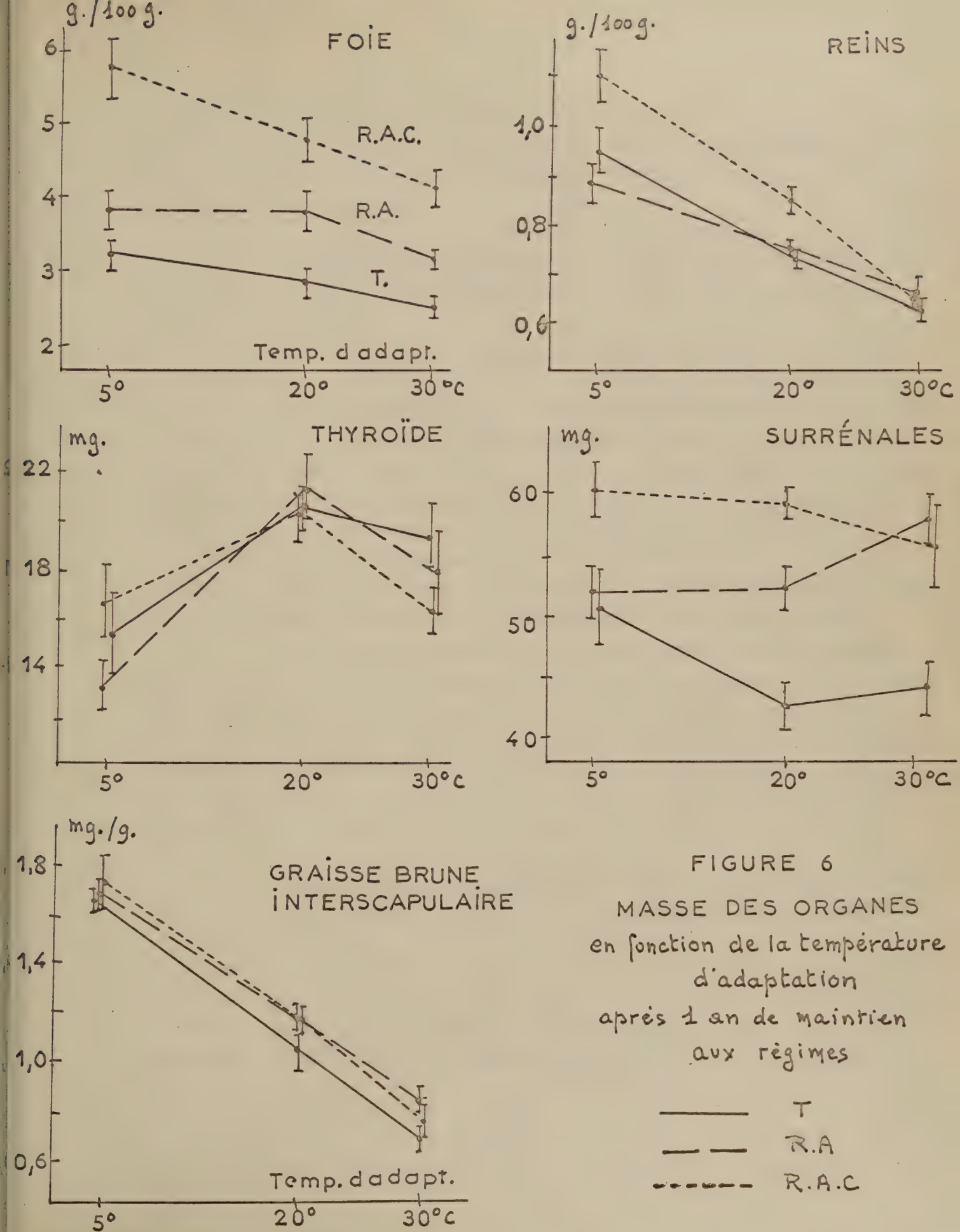
1)- Foie

α) Effet de la température : On observe, à 5°C, une diminution de la teneur en lipides totaux significative seulement avec les régimes hyperlipidiques.

Cholestérol. - Pour tous les régimes, la teneur en cholestérol total est plus faible à 5°C qu'à 30°C. Les variations sont dues essentiellement à l'abaissement du taux de cholestérol estérifié, les taux de cholestérol libre restant constants.

Phospholipides. - Pour tous les régimes, les taux de phospholipides ne sont pas significativement affectés par la température d'élevage.

Triglycérides. - Pour tous les régimes, le taux des triglycérides est plus faible à 5°C qu'à 30°C. Ceci peut pro-



venir d'une utilisation accrue des triglycérides chez le rat maintenu au froid, ce qui implique une moindre accumulation hépatique associée, nous l'avons vu, à une diminution des dépôts lipidiques.

β) Effet des régimes : le régime hyperlipidique (RA) augmente le taux de lipides totaux, mais cette augmentation n'est significative qu'à 30°C.

Le taux de cholestérol total est augmenté aux deux températures, surtout en ce qui concerne la forme estérifiée.

Les triglycérides sont significativement accrus seulement à 30°C. Les triglycérides fournis par le régime RA, sont donc peu stockés par le foie des animaux adaptés au froid. Par contre, avec ce même régime, dont la teneur en cholestérol est faible et voisine de celle du régime T, on observe une augmentation de la teneur en cholestérol du foie. On peut en déduire que l'apport d'acides gras exogènes favoriserait, soit l'absorption intestinale du cholestérol, soit sa synthèse.

- Le régime hyperlipidique additionné de cholestérol a pour effet de développer une stéatose importante qui se traduit par une augmentation des taux des lipides totaux et du cholestérol total, surtout sous forme estérifiée (90 % du cholestérol total est en effet estérifié). Les taux de cholestérol libre et ceux des triglycérides sont également augmentés, mais dans de moindres proportions.

Conclusion : Nous observons donc, un effet lipotrope du froid (une diminution des taux de cholestérol estérifié et de triglycérides), soit avec le régime pauvre en lipides (T), soit avec les régimes riches en lipides. Ces ~~deux~~³ régimes contiennent des substances lipotropes : choline (40 mg/100 Calories) et inositol. Le froid ne prévient pas, cependant, la stéatose obtenue avec le régime additionné de cholestérol.

Régime	TS		RA		RAC	
	5°	30°	5°	30°	5°	30°
Température °C						
Nombre d'animaux	7	8	8	8	5	8
Poids des rats g.	375 ± 12	489 ± 28	398 ± 15	519 ± 21	329 ± 24	453 ± 30
Poids du foie g.	15,30 ± 0,80	11,90 ± 1,90	14,60 ± 0,60	12,50 ± 0,60	24,60 ± 2,30	23,20 ± 2,20
<u>Foie</u> corps en %	4,09 ± 0,18	2,47 ± 0,20	3,68 ± 0,14	2,42 ± 0,10	7,56 ± 0,73	5,07 ± 0,22
% Lipides totaux	5,16 ± 0,17	6,02 ± 0,45	6,16 ± 0,82	9,11 ± 0,70	27,23 ± 1,72	31,54 ± 0,85
% Cholestérol total	0,22 ± 0,01	0,33 ± 0,03	0,41 ± 0,08	0,66 ± 0,12	9,19 ± 0,64	10,03 ± 0,78
% Cholestérol libre	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,22 ± 0,006	0,68 ± 0,04	0,68 ± 0,05
% Cholestérol estérifié	0,04 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,20 ± 0,06	0,44 ± 0,10	8,52 ± 0,60	9,35 ± 0,75
% Phospholipides	4,32 ± 0,23	4,29 ± 0,40	5,33 ± 0,86	4,34 ± 0,47	3,38 ± 0,45	4,12 ± 0,39
% Lipides neutres (calculés par différence)	0,62	1,40	0,42	4,11	14,66	17,39

Tableau 5

Composition lipidique du foie après 1 an de maintien aux régimes

2)- Tissu adipeux brun et blanc (fig. 7, 8, 8')

Nous avons comparé la composition en lipides de la graisse brune interscapulaire à celle de la graisse blanche épiddymale. L'étude a été faite chez des rats adaptés aux 2 températures, nourris ou à jeûn depuis 18 h.

a) Il apparaît des différences dans la composition de ces tissus selon la température d'élevage.

- à 30°C, leur composition est comparable : 70 à 80 % de lipides ; la teneur en cholestérol est faible et augmente peu, mais significativement avec le régime RAC (de 0,10 à 0,14-0,18 %). Le cholestérol est peu estérifié (rapport E/T compris entre 0,15 et 0,25).

- au froid, par contre, la teneur en lipides est différente dans les 2 tissus : la graisse brune ne contient, seulement, que 40 % de lipides. Le taux de cholestérol est voisin de celui de l'épididyme et, significativement, plus élevé qu'à 30°C. Il est, également, augmenté avec le régime RAC dans les 2 tissus (rapport E/T doublé).

b) Sous l'effet du jeûne , la teneur en lipides de la graisse brune n'est diminuée que chez les rats adaptés au froid. Le tissu adipeux brun interscapulaire dont la masse est 2 à 3 fois plus élevée au froid qu'au chaud ne représente pas une réserve importante de lipides. Chez les adaptés au froid, il intervient, cependant, très activement dans la production d'énergie ainsi que l'ont montré plusieurs auteurs.

c) Aux 2 températures d'élevage et pour les 2 tissus adipeux, la surcharge du régime en cholestérol n'affecte pas le taux de lipides, mais augmente, significativement, la teneur de ces lipides en cholestérol.

FIGURE 7: GRAISSE BRUNE INTERSCAPULAIRE

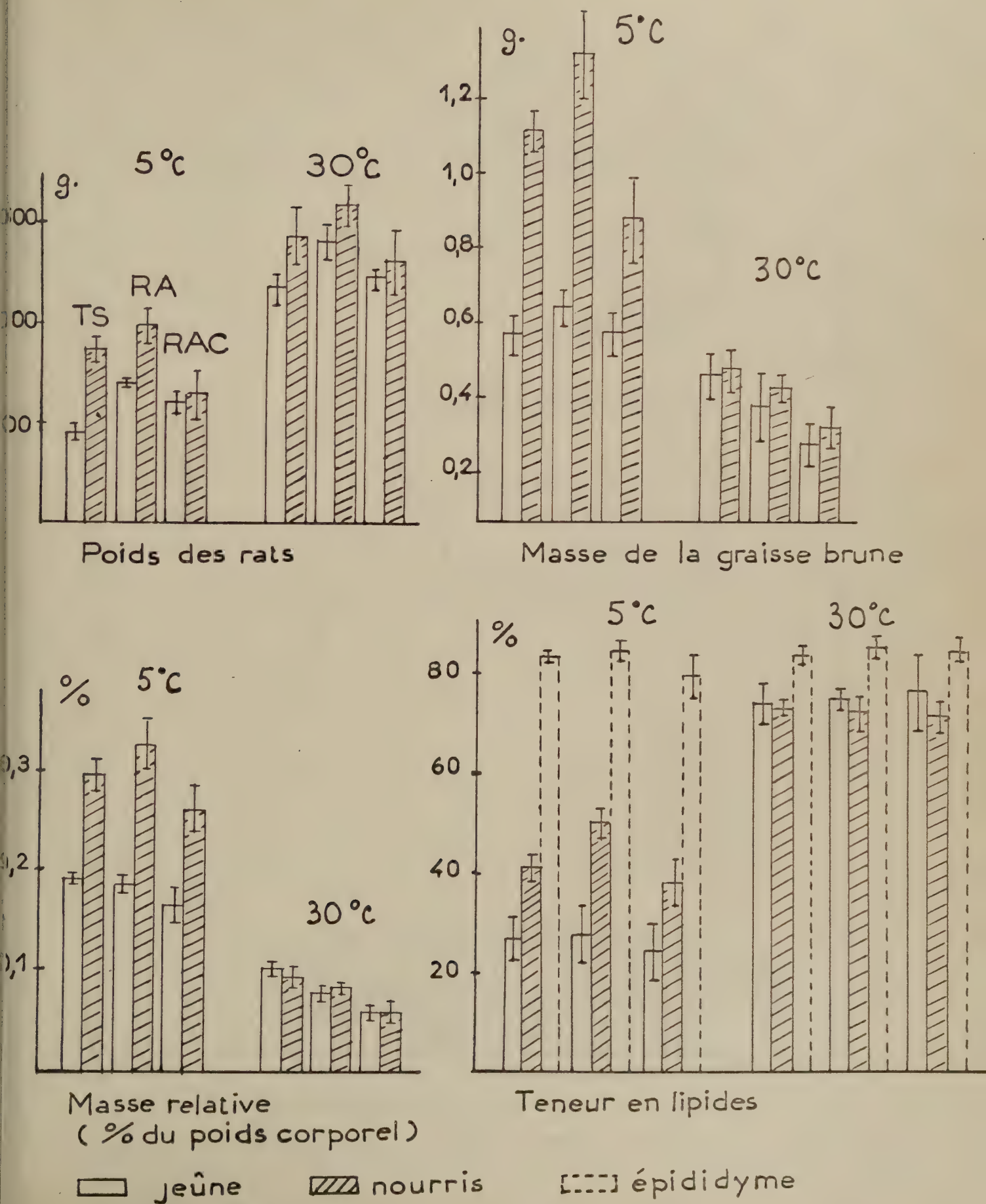


FIGURE 8:
CHOLESTEROL DE LA GRAISSE BRUNE (1)

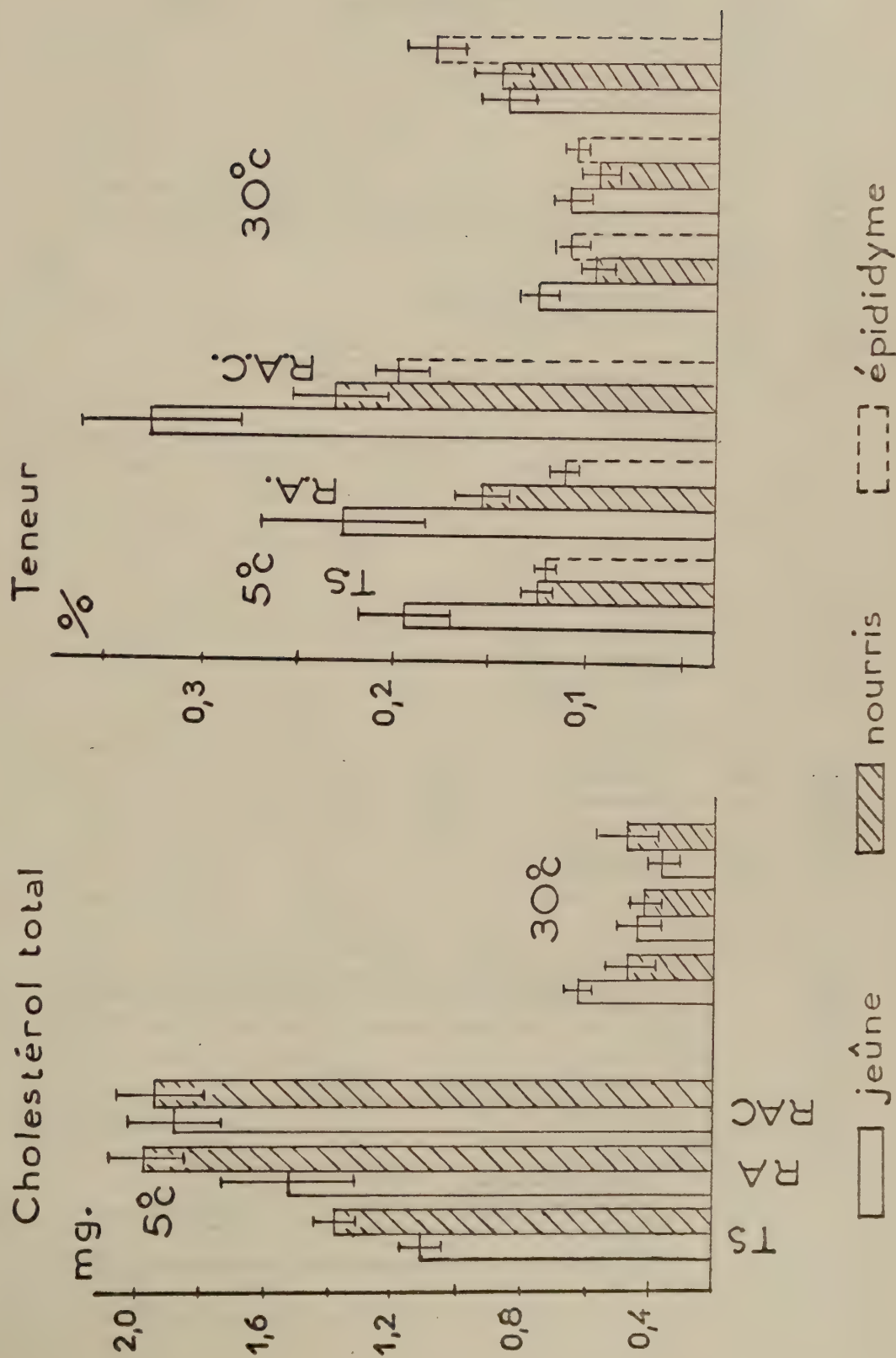
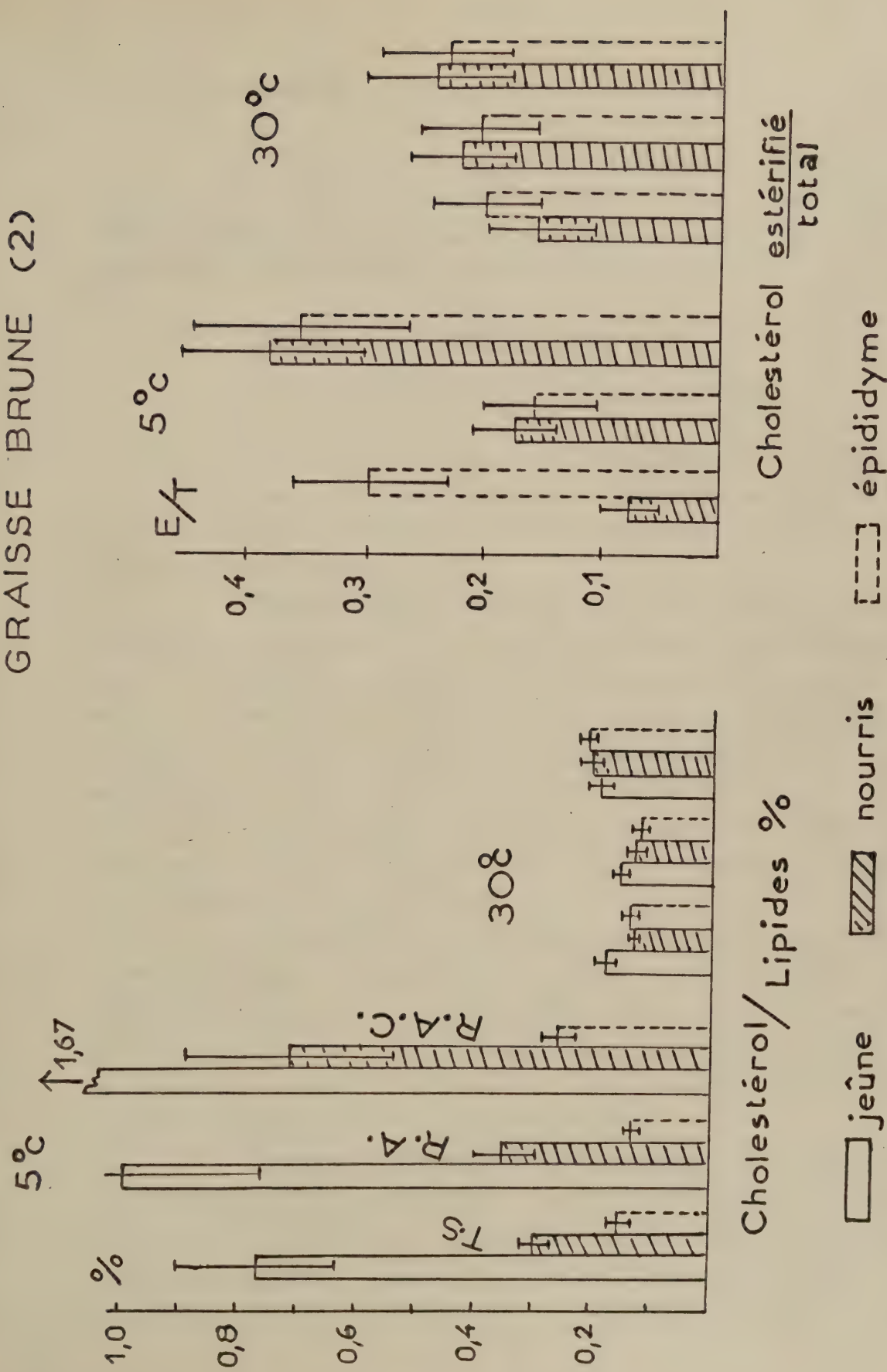


FIGURE 8' : CHOLESTEROL DE LA

GRAISSE BRUNE (2)



C) Conclusion

L'étude de la masse de différents organes et celle de la composition lipidique du foie et des tissus adipeux brun et blanc, fait apparaître une influence de la température d'élevage et du régime administré.

1)- Effet de la température

a) Hypertrophie des organes au froid

Alors que la masse du foie, des reins, des surrénales et du tissu adipeux brun est augmentée sous l'effet de l'adaptation au froid, on observe une diminution de celle du tissu adipeux blanc.

L'hypertrophie de ces différents organes est certainement la conséquence de l'accroissement du métabolisme général de l'organisme soumis à des températures basses. En effet, dans leur étude sur la Souris et le Lapin, CHEVILLARD et MAYER (1939) ont noté que chez des animaux de même poids, vivant à des températures différentes (4°C, 18°C, 30°C), il existe une relation entre la masse du foie et l'intensité des échanges respiratoires. La masse du foie est inversement proportionnelle à la température extérieure.

L'étude de la variation de la masse des organes essentiels durant l'adaptation a été également étudiée par EMERY (1940) chez le Rat. D'après cet auteur, chez les petits homéothermes soumis au froid, tous les organes (reins, thyroïde, surrénales, coeur, poumons, foie et tractus intestinal) présentent des gains de poids importants.

D'autres auteurs ont, également, observé ces variations. HEROUX et GRIDGEMAN (1958) montrent que l'adaptation au froid ne modifie pas la masse du cerveau, des organes génitaux et des poumons ; il y a hypertrophie du foie, des intestins, des reins, du coeur et des surrénales ; il y a, par con-

tre, réduction de la masse des muscles, de la fourrure, des graisses, du squelette, de la rate et du thymus.

Des travaux de CHEVILLARD et coll. (1964) montrent que le poids des organes est une fonction de puissance du poids du corps de la forme $P_o = a^{P_c}$. Les lignes de régression établies pour chaque organe ont une pente différente à 5°C et 30°C.

L'augmentation de la masse de la graisse brune au froid a été également observée chez le Rat par PAGE et BABINEAU (1950), BABINEAU et PAGE (1951), SMITH (1962), SMITH et ROBERTS (1964).

b) Dépôts lipidiques

Quant à la diminution des dépôts lipidiques, elle peut être aussi attribuée, ainsi que nous l'avons vu, à l'augmentation des besoins énergétiques. La teneur en lipides du foie et du tissu adipeux brun est aussi abaissée par l'adaptation au froid. L'augmentation de la masse de ces 2 organes est donc due à une hypertrophie cellulaire et non à une surcharge lipidique.

CHAFFEE et coll. (1964) en effet trouvent que chez le Hamster adapté au froid, l'augmentation de la masse de graisse brune n'est pas due à une augmentation de la teneur en lipides, mais à une augmentation de la teneur en protéines de ce tissu.

L'effet lipotrope du froid a été étudié par SELLERS et YOU (1952), puis par TREADWELL (1961). Ce dernier auteur trouve un effet préventif et curatif des foies gras produits par des régimes hyperlipidiques ne contenant pas de facteurs lipotropes (choline et inositol). Par un mécanisme encore inconnu, le froid diminuerait donc les besoins en ces facteurs.

c) Tissu adipeux brun

Le rôle du tissu adipeux brun dans la thermogénèse de réchauffement des mammifères hibernants ou non hibernants a retenu ces dernières années l'attention de nombreux chercheurs. JOHANSONN (1959), puis SMITH (1969) ont fait des revues très complètes des travaux portant sur ce sujet. Le tissu adipeux brun présente de nombreuses différences anatomiques et physiologiques avec le tissu adipeux blanc. En particulier, la réponse des 2 tissus à des conditions entraînant la mobilisation de graisses corporelles est différente chez le rat adapté à température normale : CLEMENT (1947).

Nos expériences de maintien à un jeûne de 18 heures montrent, que l'adaptation préalable au froid, permet l'utilisation rapide des réserves lipidiques de la graisse brune. Ces observations rejoignent celles de HEIM et KELLERMAYER (1966-1967). Chez le Lapin nouveau-né, les lipides de la graisse brune, sont mobilisés durant le jeûne si l'animal est exposé à une température située en dessous de la neutralité thermique.

Le tissu adipeux brun est un tissu spécialisé dans la production de chaleur. Bien que la masse de tissu ne représente que 1 % du poids total du corps (SMITH et ROBERTS, 1964), on a estimé que sa thermogénèse représentait, environ, 8 % de l'énergie totale dépensée pendant une exposition aigüe au froid (IMAI et coll. 1968). Le médiateur physiologique par lequel le métabolisme de la graisse brune est stimulé, est, très probablement, la noradrénaline. Celle-ci agirait en stimulant la production de 3',5' AMP (par l'adényl cyclase), qui à son tour active, entre autres enzymes, une lipase catalysant l'hydrolyse des triglycérides. Les acides gras libérés et le glycérol après sa conversion en α glycérophosphate peuvent rapidement être oxydés in vitro par le tissu brun. Il apparaît que l'un ou l'autre, ou les 2, peuvent servir de subs-

trats d'oxydation au cours de la stimulation du métabolisme du tissu adipeux brun par la noradrénaline (SMITH 1969).

d) Métabolisme du cholestérol

Chez les rats adaptés au froid, le taux de cholestérol hépatique est plus faible que chez les adaptés à 30°C. Ces résultats sont en accord avec ceux de BOBEK et GINTER (1966) qui trouvent, chez des rats adaptés au froid (8 heures par jour, pendant 13 semaines) et nourris avec un régime équilibré, une diminution du taux de cholestérol dans le foie. Il pourrait y avoir diminution de la biosynthèse du cholestérol, car les foies de ces animaux montrent une incorporation plus faible, mais non significative, de l'acétate marqué en cholestérol.

Les résultats obtenus par d'autres auteurs sont assez divergents.

WOOD (1964) trouve que l'exposition au froid (2°C pendant 28 jours) a peu d'effet sur les taux de cholestérol hépatique et plasmatique lorsque le régime contient des taux suffisants de choline et inositol. La seule modification significative observée est une faible élévation du taux de cholestérol hépatique des rats adaptés au froid.

MEFFERD et coll. (1958), sur l'animal entier nourri avec un régime commercial, observent chez le rat adapté au froid (2°C pendant 2 mois) une augmentation de l'incorporation de l'acétate marqué dans le cholestérol total corporel.

Quant à MASORO (1960), il n'observe pas de différence significative de la biosynthèse hépatique du cholestérol mesurée par l'incorporation d'acétate marqué en cholestérol par des coupes de foie, entre des rats exposés à 25°C et à 2°C pendant une période très courte (1 jour). Cependant l'exposition du rat au froid pendant 5 jours, augmente la capacité des coupes de foie à convertir l'acétate 1-Cl¹⁴ en cholestérol. Lorsque l'on donne à ces rats, 5 g de glucose par tube stoma-

cal avant le sacrifice, la cholestérogénèse est augmentée aux 2 températures ; cependant l'augmentation est beaucoup plus grande dans le foie des rats exposés au froid. On peut attribuer ces contradictions au type de régime consommé par les rats ainsi qu'aux conditions d'adaptation (température, durée d'exposition) qui peuvent influencer les modifications de concentration en cholestérol apportées par le froid.

Par contre, dans le tissu adipeux brun, la teneur en cholestérol est plus élevée à 5° qu'à 30°C, alors que la teneur en lipides est plus faible. Il y a donc, dans ce tissu, une accumulation de cholestérol. La teneur élevée en cholestérol du tissu adipeux brun par rapport à celle du tissu adipeux blanc a été aussi rapportée, chez le Cobaye, par MENSCHIK (1951).

2)- Effet du régime

a)- Les lipides fournis par le régime hyperlipidique RA sont très peu stockés dans le foie des animaux adaptés au froid. Ceci est en accord avec une utilisation rapide des lipides alimentaires au froid. Par contre, avec ces mêmes régimes, nous notons, aux 2 températures, une augmentation du taux de cholestérol principalement sous forme estérifiée. L'absorption d'acides gras exogènes favoriserait donc la synthèse du cholestérol hépatique (WHITNEY et ROBERTS (1955), HILL et coll. (1960)). BORTZ (1967), à la suite de travaux sur les effets des graisses alimentaires sur la conversion d'acétate marqué en CO_2 , acides gras, cholestérol et acéto-acétate par des coupes de foie de rats, pense qu'un mécanisme autre que l'excès d'acétyl CoA produit, doit être proposé pour expliquer la formation de cholestérol secondaire à l'ingestion de graisse alimentaire.

b)- L'addition de 2 % de cholestérol au régime RA a pour effet de produire une stéatose hépatique, cependant légè-

rement moindre au froid. Cet effet du cholestérol exogène a déjà été observé par de nombreux auteurs à la suite de SINCLAIR et CHIPMAN (1947) et CLEMENT et coll. (1954). Cette stéatose se traduit par une augmentation des lipides totaux et du cholestérol total, principalement sous forme estérifiée.

L'adaptation au froid a pour effet de diminuer l'accumulation des triglycérides hépatiques. Ces résultats sont en accord avec ceux de TREADWELL (1961). Les foies gras produits chez des rats nourris avec des régimes semblables aux nôtres mais sans choline ni inositol, ont un taux plus faible de triglycérides quand les animaux ont été exposés au froid (1°C pendant 49 jours) ; par contre, les esters du cholestérol et les phospholipides sont augmentés.

c)- Le cholestérol exogène augmente, également, la teneur en cholestérol des tissus adipeux brun et blanc, et, dans de plus grandes proportions, chez les rats adaptés au froid. Comme dans le foie, l'augmentation porte surtout sur la forme estérifiée.

3)- Effets pathologiques

A la fin de cette série expérimentale, c'est-à-dire après 10 mois de régime, nous avons sacrifié les rats et prélevé l'aorte pour une étude histologique.

Des lésions du type athéromateux apparaissent : elles présentent divers degrés de gravité allant d'un simple épaissement de l'intima à des lésions plus étendues impliquant des altérations de la structure de la média sous-jacente. Ces lésions sont surtout localisées au niveau de la crosse de l'aorte et du segment abdominal. La fréquence d'apparition des lésions est significativement plus élevée chez les rats adaptés à 30°C (60 %) que chez ceux vivant au froid (30 %). Leur degré de gravité est aussi plus grand.

Aux 2 températures d'élevage, la plus grande fréquence d'athéromes est trouvée chez les rats soumis au régime témoin pauvre en lipides. (75 % à 30°C, 50 % à 5°C).

La surcharge de cholestérol augmente, à 30°C, la gravité des athéromes.

Discussion

De ces premiers résultats, il ressort que :

a) L'adaptation à température voisine de la neutralité thermique favorise le développement des lésions athéromateuses aortiques.

Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux de certains auteurs qui ont trouvé que l'adaptation au froid favorisait l'athérogénèse. Les divergences dans les résultats peuvent être dues à des conditions d'environnement et d'alimentation différentes. En effet, la durée et la température d'adaptation sont très variables selon les différents travaux. D'autre part, les régimes utilisés contiennent, le plus souvent, des substances dites athérogènes tels que le propylthiouracil, l'acide cholique et la vitamine D₃. Les régimes que nous administrons pendant une longue période sont équilibrés et contiennent vitamines, acides gras essentiels et éléments minéraux en quantité suffisante sans adjonction d'autres produits.

b) Le régime alimentaire a une influence sur l'incidence des lésions.

Aux 2 températures, le régime qui favorise le plus le développement des lésions est le régime Témoin à faible taux de lipides, mais dont les glucides sont essentiellement constitués par du saccharose.

On peut donc supposer que l'effet athérogène de ce régime est dû à sa forte teneur en saccharose. En effet, ces

dernières années, l'existence d'une corrélation entre la consommation de sucres simples et la fréquence des maladies coronariennes chez l'Homme a été avancée par YUDKIN (1964-1967), COHEN (1963), LOPEZ et coll. (1966).

C'est pourquoi, dans la série expérimentale suivante, nous avons également utilisé un 2ème régime témoin (TAS) dont la teneur en saccharose est identique à celle des régimes hyperlipidiques (21 %) et contient, en outre, 29 % d'amidon de maïs.

De plus, et uniquement chez les rats adaptés à 30°C, nous avons fait varier la nature et les proportions relatives des divers glucides entrant dans la composition des régimes témoins (régime TF à 50 % de fructose, TA à 50 % d'amidon de maïs). Ces dernières séries expérimentales doivent nous permettre de préciser les corrélations pouvant exister entre l'apparition des lésions athéromateuses et les modifications des taux des divers lipides de l'organisme sous l'effet du régime ou de la température d'élevage.

Les résultats que nous exposons, ci-après, ont été obtenus sur les groupes de rats soumis à l'ensemble de ces régimes. Nous avons étudié la composition lipidique du sérum, la teneur en divers acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol du sérum et du foie ainsi que des triglycérides de l'épididyme. Des études histologiques ont été faites sur l'aorte et divers organes.

4°) Composition lipidique du sérum

Cette étude a été faite chez des rats adaptés à 5°C et 30°C et soumis aux régimes TS, TAS, RA et RAC.

Les dosages sériques ont été effectués après 6 mois de maintien au régime. Les divers lipides sont séparés par

chromatographie sur gel de silice et dosés par densitométrie après carbonisation.

a) Lipides totaux (fig. 9 et 9')

Nous retrouvons des résultats semblables à ceux obtenus dans la lère série expérimentale lors de l'étude des lipoprotéines. Il n'y a pas d'augmentation de la lipémie avec le régime RA, mais une augmentation importante sous l'effet de la surcharge de cholestérol (RAC). Par rapport au régime contenant de l'amidon (TAS), la surcharge de saccharose (TS) n'augmente pas les lipides circulants.

Il n'apparaît de différences significatives entre les températures d'élevage que pour les 2 régimes hyperlipidiques. La lipémie est plus élevée au froid.

b) Acides gras libres

Les valeurs obtenues pour les acides gras libres sont très dispersées. On observe cependant une augmentation significative de ceux-ci avec le régime à base de saccharose chez les rats adaptés à 30°C.

c) Triglycérides

Aux 2 températures, on n'observe pas de différence dans le taux des triglycérides entre les 3 régimes TS, TAS et RA, mais ce taux est 2 fois plus faible au froid qu'au chaud.

La surcharge en cholestérol augmente les triglycérides sériques surtout chez les adaptés au froid : les valeurs trouvées sont 6 fois plus élevées qu'avec les autres régimes.

La diminution du taux des triglycérides circulants au froid peut être le reflet d'une utilisation énergétique plus grande des acides gras, en particulier par la cellule hépatique.

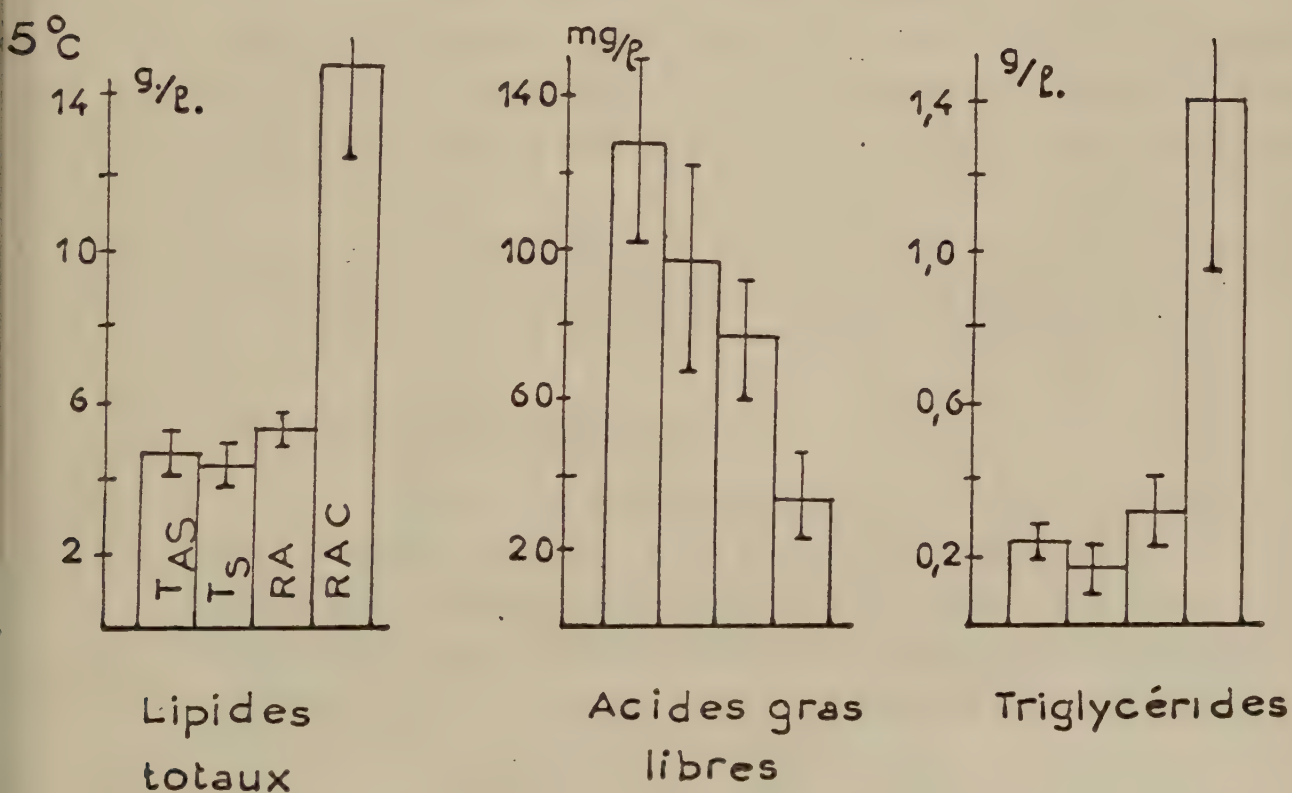
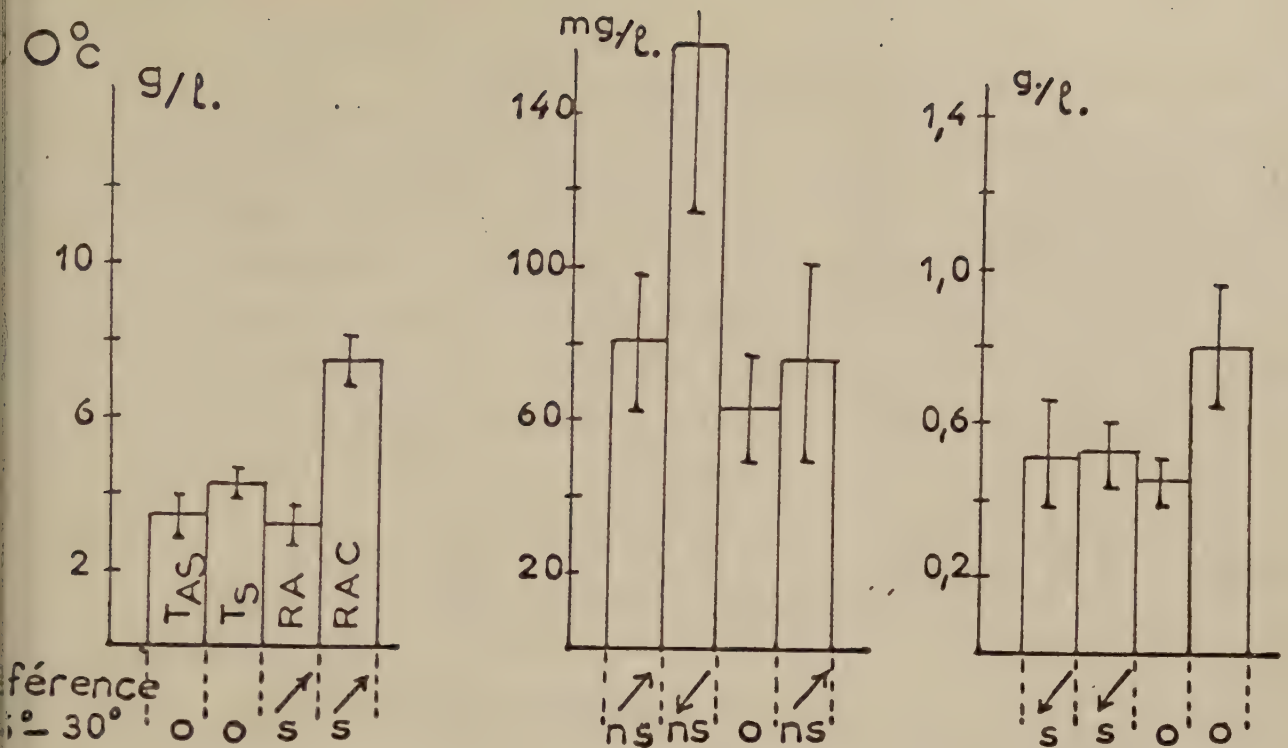


FIGURE 9: CONSTITUANTS LIPIDIQUES DU SERUM (1)
 après 6 mois de maintien aux régimes
 Séparation par chromatographie sur couche mince

L'augmentation des triglycérides sous l'effet du régime RAC est à rapprocher de l'augmentation du taux des β lipoprotéines sériques que nous avons déjà signalée avec ce régime. Nous avons dit qu'il se produit aussi de la stéatose hépatique qui implique une accumulation accrue d'esters du cholestérol et des triglycérides dans le foie. Il est possible qu'une partie de ces triglycérides, liés au cholestérol et aux phospholipides, soit retrouvée sous forme de lipoprotéines dans la circulation.

Les différences constatées dans les taux des triglycérides entre 5°C et 30°C nous ont amenés à envisager une étude de leur composition en acides gras.

d) Cholestérol

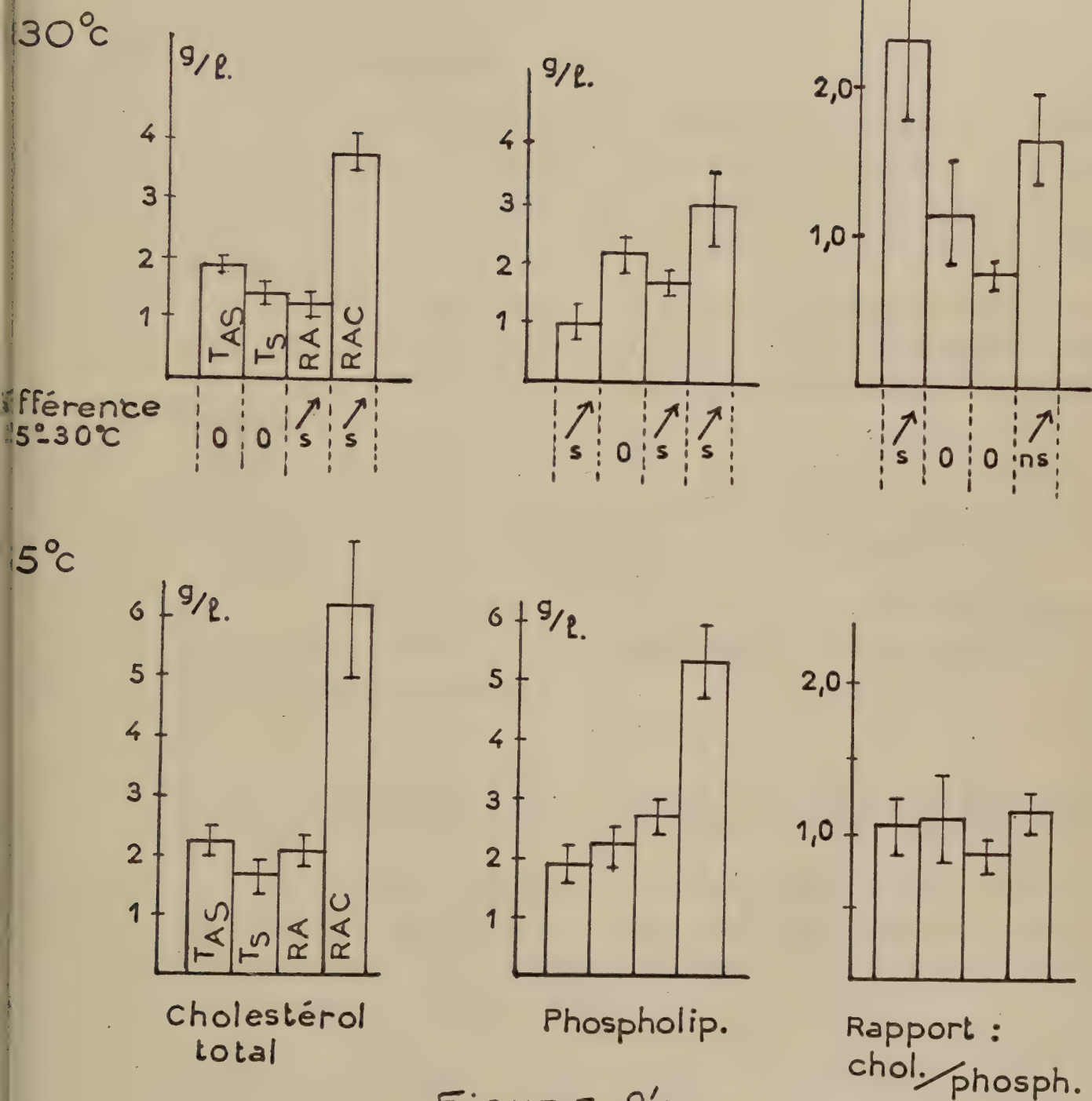
Pour chacune des températures d'élevage, le taux du cholestérol total circulant est le même pour les régimes TAS, TS et RA ; la surcharge en cholestérol multiplie ce taux par 2 chez les rats adaptés à 30°C et, par 3, chez ceux maintenus au froid.

Comme pour les lipides totaux, nous n'avons observé d'augmentation significative du cholestérol chez les adaptés au froid que pour les 2 régimes hyperlipidiques.

e) Phospholipides

Pour les phospholipides, les taux les plus faibles sont obtenus chez les rats recevant le régime TA ; la différence n'est significative qu'à 30°C. Avec le régime TS, les taux sont aussi élevés qu'avec le régime hyperlipidique RA. L'augmentation constatée avec le régime RAC est parallèle à celle trouvée pour le cholestérol.

L'adaptation au froid augmente le taux des phospholipides circulants sauf pour le régime TS. Ce fait peut être



CONSTITUANTS LIPIDIQUES DU SÉRUM (2)
après 6 mois de maintien au régime

dû au niveau déjà élevé trouvé avec ce régime chez les adaptés à 30°C.

f) Conclusion

Aux 2 températures d'élevage, le régime hyperlipidique RA, n'augmente pas le taux de divers lipides circulants par rapport aux régimes Témoin. Par contre, mis à part les acides gras libres, ces taux sont augmentés par la surcharge de cholestérol.

Pour les régimes glucidiques, le remplacement d'une partie du saccharose par de l'amidon n'a pas d'influence sur les lipides totaux ni sur le taux de cholestérol et de triglycérides.

On observe, par contre, chez les rats adaptés au chaud, une diminution du taux des phospholipides avec le régime TAS. Le rapport $\frac{\text{cholestérol}}{\text{phosphore}}$ qui est en général voisin de 1, atteint 2 avec ce dernier régime.

L'adaptation au froid provoque surtout une augmentation du cholestérol et de phospholipides et une diminution des triglycérides sériques.

5°) Acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol

L'étude des modifications du métabolisme lipidique apportées par nos diverses conditions expérimentales a été poursuivie par la détermination quantitative des acides gras estérifiant les triglycérides et le cholestérol.

On peut, en effet, supposer que sous l'effet du régime ou de la température d'élevage, la synthèse et l'utilisation des acides gras sont modifiées. Pour préciser leur synthèse hépatique et leurs formes de transport, nous avons dosé les acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol

hépatique et sérique. Dans le tissu épидидymal, la nature des acides gras constituant les réserves lipidiques a été également déterminée.

Les acides gras ont été dosés par chromatographie en phase gazeuse. Les rats ont été privés de nourriture 5 heures avant les prélèvements, afin d'éviter la période postprandiale.

A) Triglycérides (fig. 10)

1) Foie :

Par rapport au régime TAS, on observe, sous l'effet du régime à forte teneur en saccharose TS, une diminution du taux de l'acide linoléique ($C_{18} = 2$), accompagnée au froid par une augmentation des acides palmitique ($C_{16} = 0$) et palmitoléique ($C_{16} = 1$).

La surcharge en lipides augmente l'acide stéarique ($C_{18} = 0$), et diminue le $C_{16} = 1$. (acide oléique)

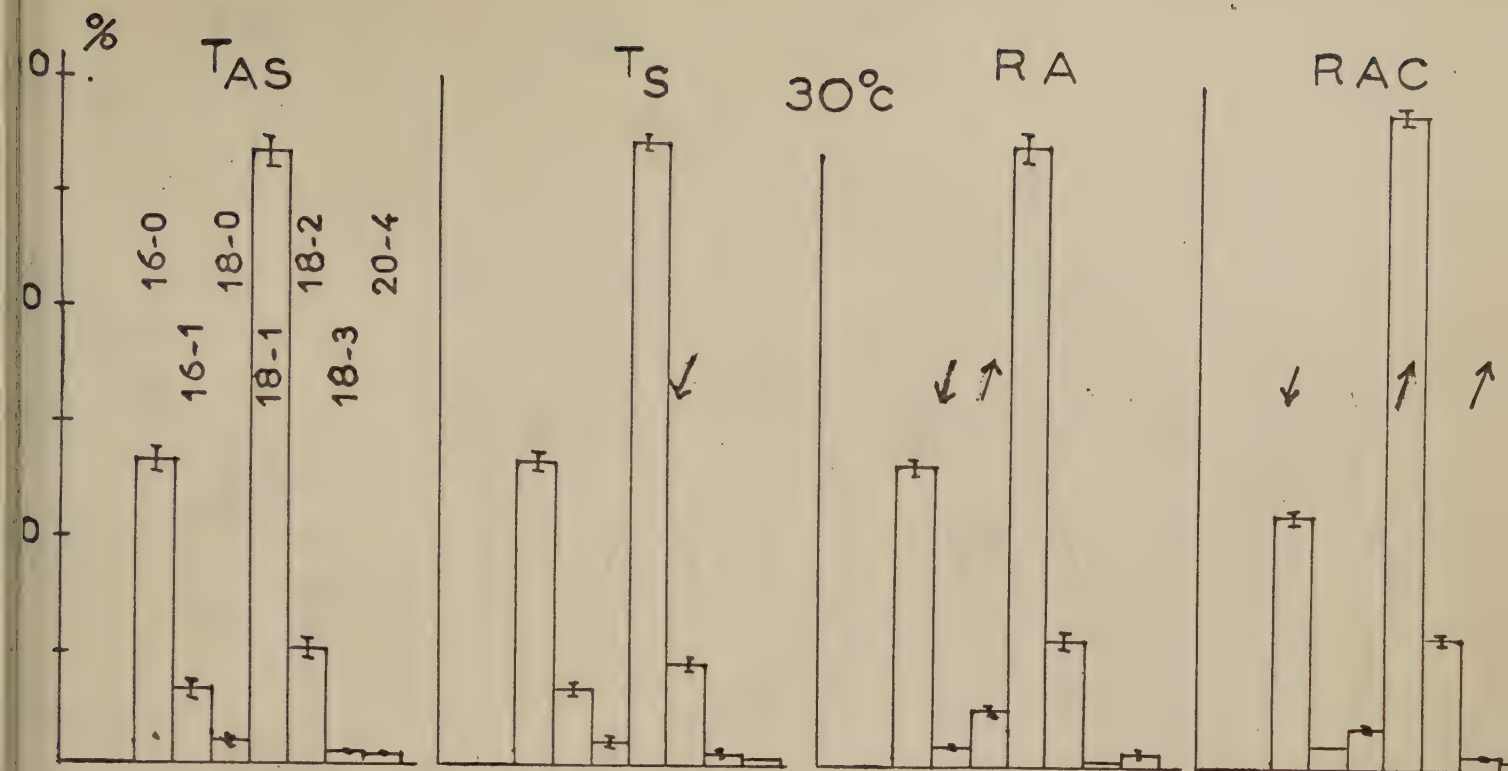
L'addition de cholestérol augmente le $C_{18} = 1$ et diminue le $C_{16} = 0$. La stéatose est donc accompagnée par une augmentation du taux d'acide oléique : 58 % avec RAC contre 53 % avec RA.

Pour l'ensemble des régimes, les taux relatifs des divers acides gras sont voisins aux 2 températures d'élevage.

2) Sérum (fig. 11) :

Les triglycérides sériques ont une composition comparable à celle du saindoux qui représente la source de lipides du régime (Tableau 6). Ils sont plus saturés que les triglycérides hépatiques et ont un taux de $C_{18} = 1$ plus faible, 45 à 49 % contre 51 à 58 %. Le régime surchargé en saccharose (TS) augmente le taux de $C_{18} = 0$ et diminue celui de $C_{18} = 2$.

Les régimes hyperlipidiques ont les mêmes effets et provoquent en plus une diminution du $C_{16} = 1$.



différence

30°C ↓ ↑ ↓

↑ ↓ ↑

↑

↑ ↓ ↑

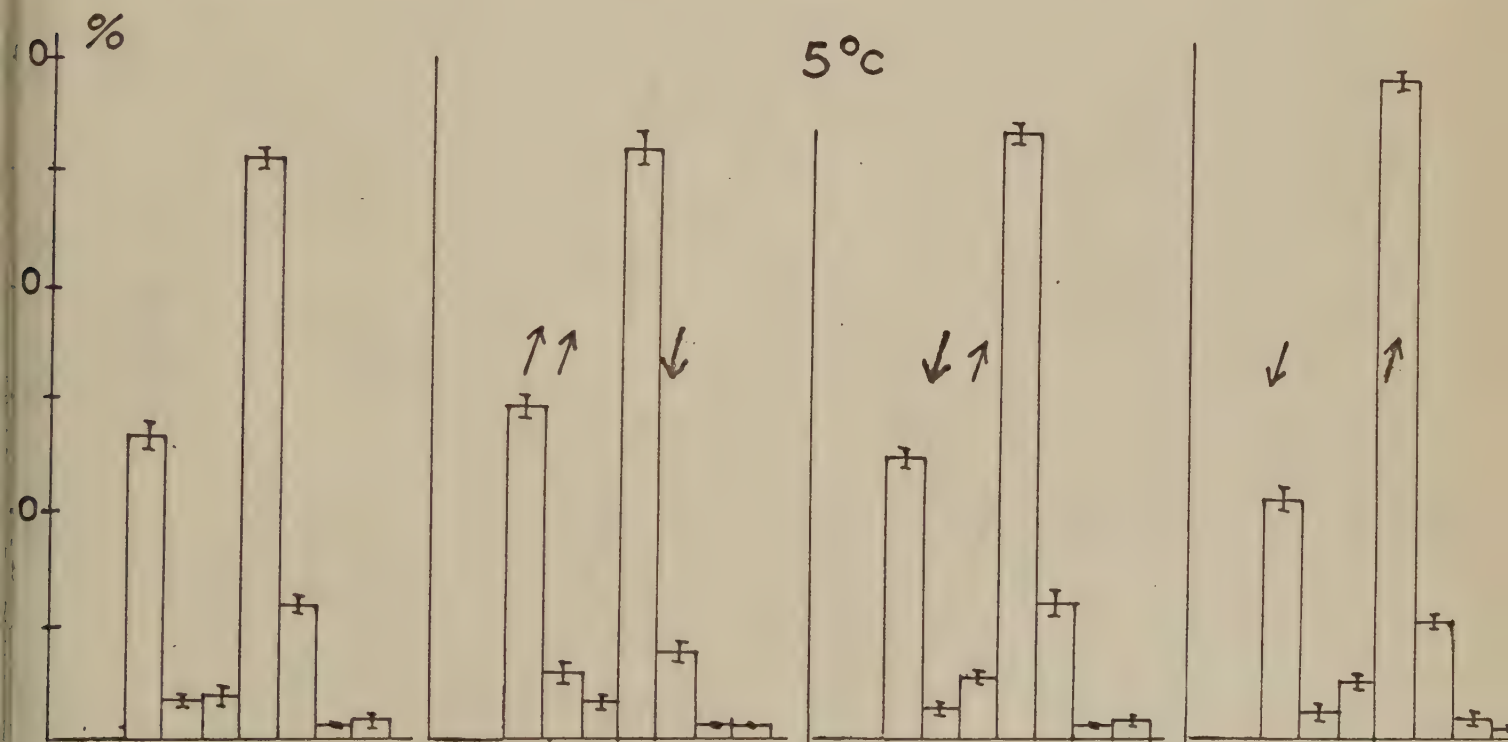


FIGURE 10:

ACIDES GRAS DES TRIGLYCÉRIDES HÉPATIQUES

Les flèches indiquent le sens des différences (significatives) entre TAS et TS, RA et TS, RAC et RA, et entre 5°C et 30°C pour tous les régimes.

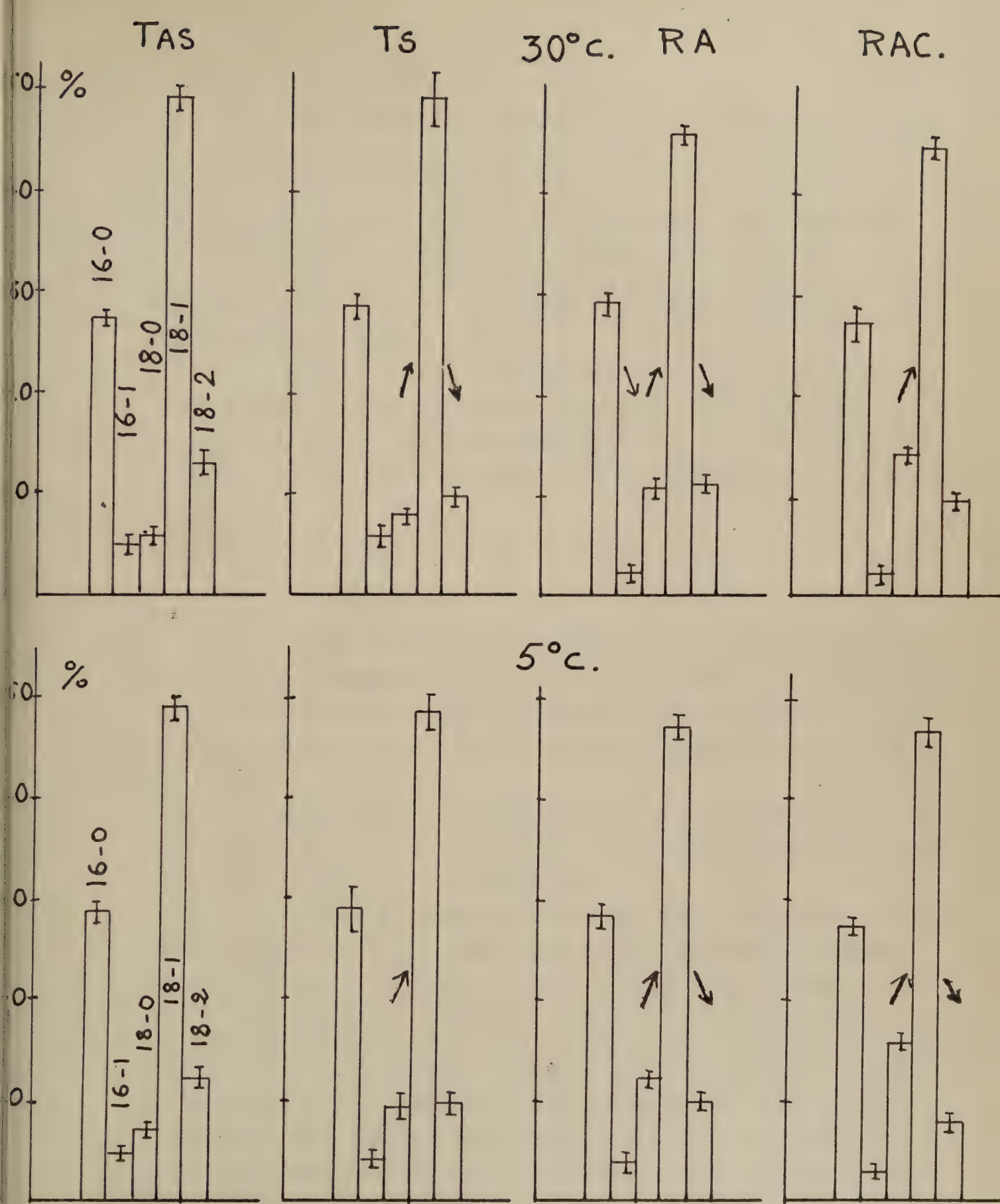


FIGURE 11: Acides gras des triglycérides sériques

On ne note pas d'effet de la température d'élevage.

3) Epididyme (fig. 12) :

Les acides gras des triglycérides de l'épididyme ont des taux voisins de ceux du foie.

Il y a peu de différence, aux 2 températures, entre les régimes TS et TAS. On observe, seulement, avec le régime TS, une diminution du $C_{18} = 2$.

Sous l'effet du régime hyperlipidique RA, par rapport à TAS, il se produit une diminution des acides gras en C_{16} et $C_{18} = 2$ et une augmentation du $C_{18} = 0$ et du $C_{18} = 1$. L'adaptation au froid diminue le $C_{18} = 2$ pour les régimes TS et TAS.

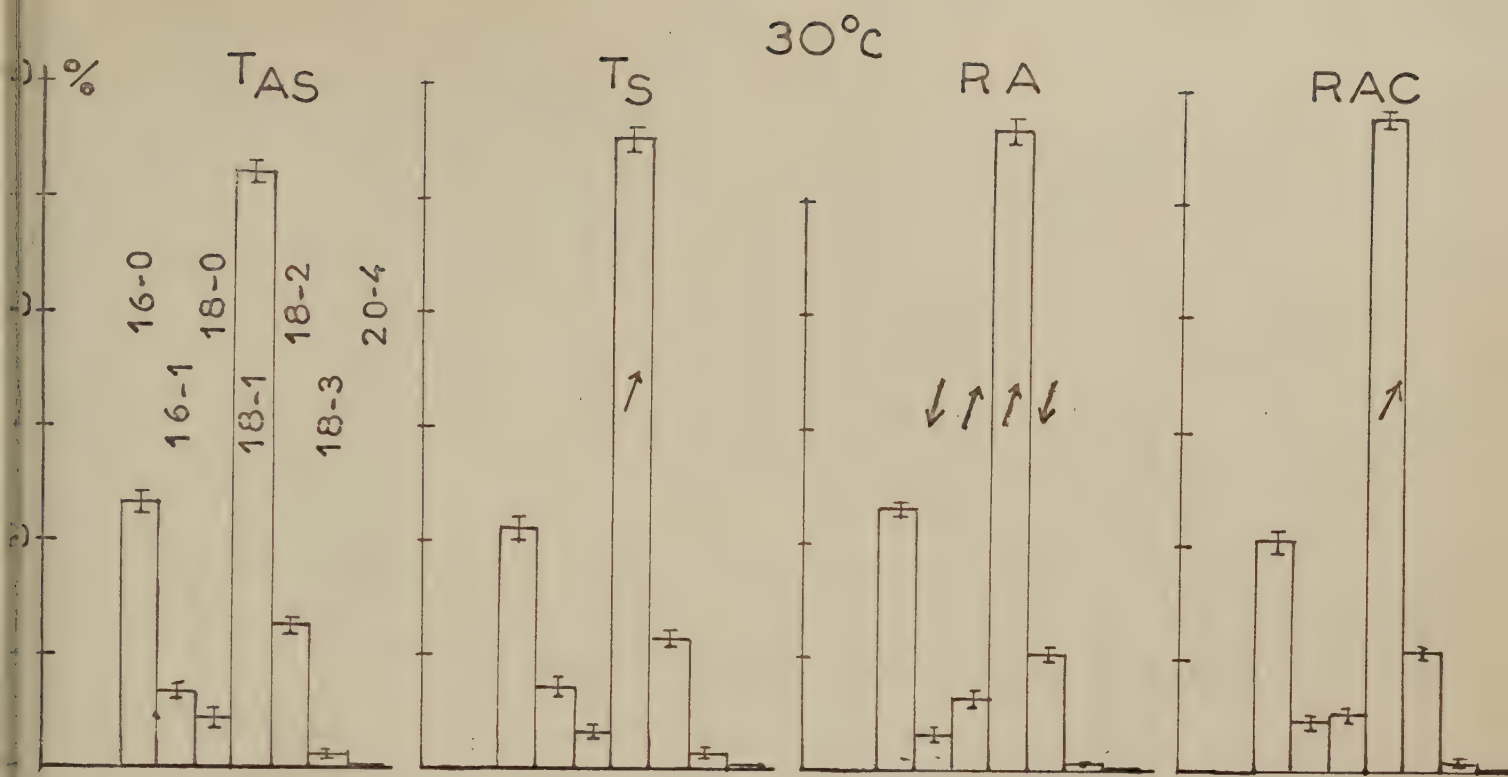
4) Conclusion

a) La composition en acides gras des triglycérides des 3 tissus étudiés (foie, sérum, épididyme) est très voisine. Les triglycérides sont estérifiés principalement par de l'acide palmitique (21 à 29 %) et de l'acide oléique (45 à 58 %).

Par rapport au régime contenant de l'amidon, le régime riche en saccharose abaisse, aux 2 températures, le taux d'acide linoléique des triglycérides.

b) Les 2 régimes témoins que nous utilisons ont une teneur équivalente en acide linoléique. L'apport journalier est de 125 mg. à 30°C et 200 mg à 5°C. Cet acide gras n'est pas synthétisé par l'organisme. Dans le cas d'une diminution de son taux dans les triglycérides étudiés, on peut supposer qu'il a été utilisé comme substrat énergétique, ou transformé en un autre acide gras essentiel, l'acide arachidonique par exemple. Ceci ne semble pas être le cas dans nos expériences ; nous ne notons pas, en effet, d'augmentation du taux d'acide arachidonique lorsque le taux d'acide linoléique diminue.

On peut aussi émettre l'hypothèse que, avec le ré-



Différence

30°C ↓ ↓ ↓ ↑ ↑ ↑ ↑

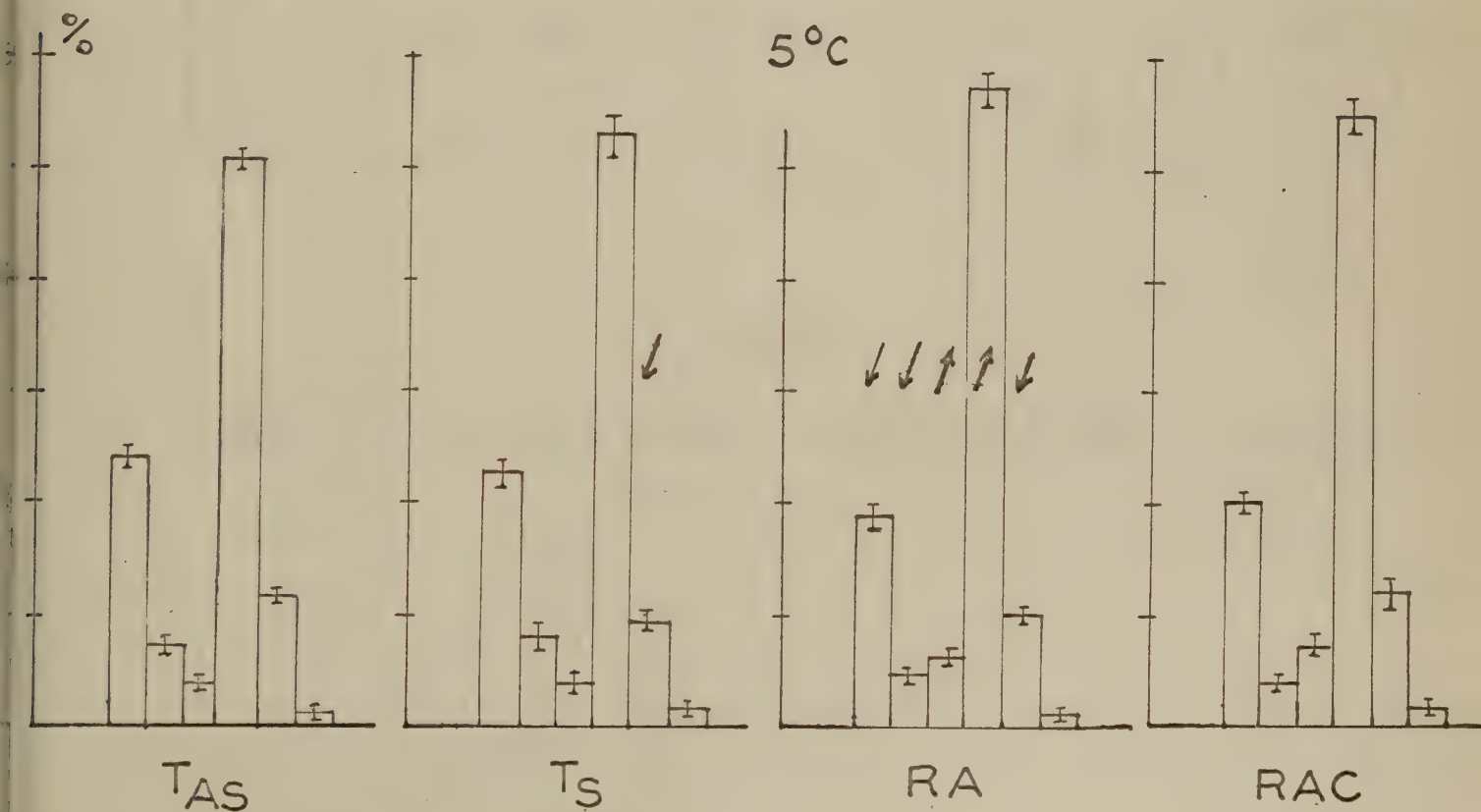


FIGURE 12 :

ACIDES GRAS DES TRIGLYCÉRIDES DE L'ÉPIDIDYME

Acides gras Régimes	C ₁₆ =0	C ₁₆ =1	C ₁₈ =0	C ₁₈ =1	C ₁₈ =2	C ₁₈ =3
Saindoux	23,61	3,09	15,11	46,49	9,07	2,62
TAS	20,38	2,62	10,78	45,18	17,51	3,53
TS	22,45	2,58	11,93	43,51	16,26	3,26
RA	24,49	3,11	13,77	47,08	9,60	2,04

Tableau 6

Composition en acides gras des triglycérides du saindoux et des régimes

gime TS, l'acide linoléique est réparti différemment, entre les divers lipides organiques. C'est ce que nous vérifierons, par la suite, en étudiant les esters du cholestérol et des phospholipides.

c) Le régime hyperlipidique provoque, en général, une augmentation du taux d'acide stéarique et une diminution des taux d'acide palmitique et linoléique. L'apport journalier d'acide linoléique est, avec ce dernier régime, supérieur à celui des régimes pauvres en lipides. Il est de 350 mg environ à 30°C et de 620 mg à 5°C.

La surcharge en cholestérol a des effets variables selon le tissu considéré. Les effets les plus nets sont observés sur les triglycérides hépatiques.

d) Nous n'avons pas trouvé de différence significative dans la saturation des acides gras des triglycérides entre les rats adaptés aux 2 températures. De même FAWCETT et LYMAN (1954) n'observent pas de variation de l'indice d'iode de graisses de réserves de rats blancs adaptés à 5°C pendant 6 à 12 semaines. Par contre, les résultats obtenus par les autres auteurs, par mesure du point d'ébullition, de l'indice d'iode ou par détermination de la composition en acides gras, par chromatographie en phase gazeuse des graisses de réserves concluent à une augmentation de l'insaturation au froid. Ces travaux ont été faits par CLEMENT (1950) sur le rat blanc exposé à 10°C pendant 72 heures, par YOUNG et COOK (1955) sur le rat Long-Evans à 4°C pendant 20 semaines, par FAWCETT et LYMAN (1954), KODOMA et PACE (1963) (1964) sur le Hamster exposé à 5°C pendant 12 ou 2 semaines et par WILLIAM et PLATNER (1967) chez des rats adaptés à 5°C pendant 8 à 9 semaines. Dans nos conditions d'expérience, une très longue période de maintien à température basse, ne provoque pas le changement adaptatif portant sur l'insaturation des lipides de réserves observé, pendant les premiers mois de l'adaptation, sous l'effet d'une

- aux 2 températures d'élevage : (fig. 14)

La surcharge en lipides (RA) diminue le taux de $C_{16=1}$ et augmente ceux de $C_{18=1}$ et $C_{18=2}$.

L'addition de cholestérol à ce régime augmente dans d'importantes proportions le taux de $C_{18=1}$, tandis que celui en $C_{20=4}$ (acide arachidonique) diminue.

production intense d'hormones (noradrénaline principalement).

B) Esters du cholestérol

1)- Foie

- à 30°C : (fig. 14), par rapport au régime TAS, la surcharge en saccharose augmente le taux des acides gras saturés en C_{16} et C_{18} . Cependant (fig. 13), la comparaison des effets de régimes à taux variable de saccharose, par rapport au régime à base d'amidon, ne met pas en évidence d'effet proportionnel du saccharose sur le taux des acides gras. On observe, toutefois, une petite diminution du $C_{20} = 4$ et du $C_{18} = 2$ avec TF et TS.

- à 5°C (fig. 14) : avec le régime TS, il apparaît l'effet inverse, c'est-à-dire une diminution de la saturation des acides gras.



2)- Sérum (fig. 14')

La composition des esters du cholestérol sérique est différente de celle du foie. Alors que dans le foie, c'est l'acide oléique qui estérifie la majeure partie (45 à 72 %) du cholestérol, dans le sérum, c'est l'acide arachidonique (50 à 60 %)(avec les régimes sans cholestérol).

De même que pour les triglycérides, aux deux températures d'élevage, la surcharge en saccharose provoque une diminution de l'acide en $C_{18} = 2$. A 30°C (fig. 13), on n'observe pas de relation avec la teneur du régime en fructose, mise à part une diminution du $C_{20} = 4$ et $C_{18} = 2$ déjà constatée dans le foie avec les régimes TF et TS.

Ainsi que nous l'avons déjà observé dans le foie, le régime hyperlipidique (RA) diminue le taux de $C_{16} = 1$ et augmente celui en $C_{18} = 1$.

La surcharge de cholestérol (RAC) augmente de façon importante la teneur en $C_{18} = 1$ (2 fois) et diminue celle du



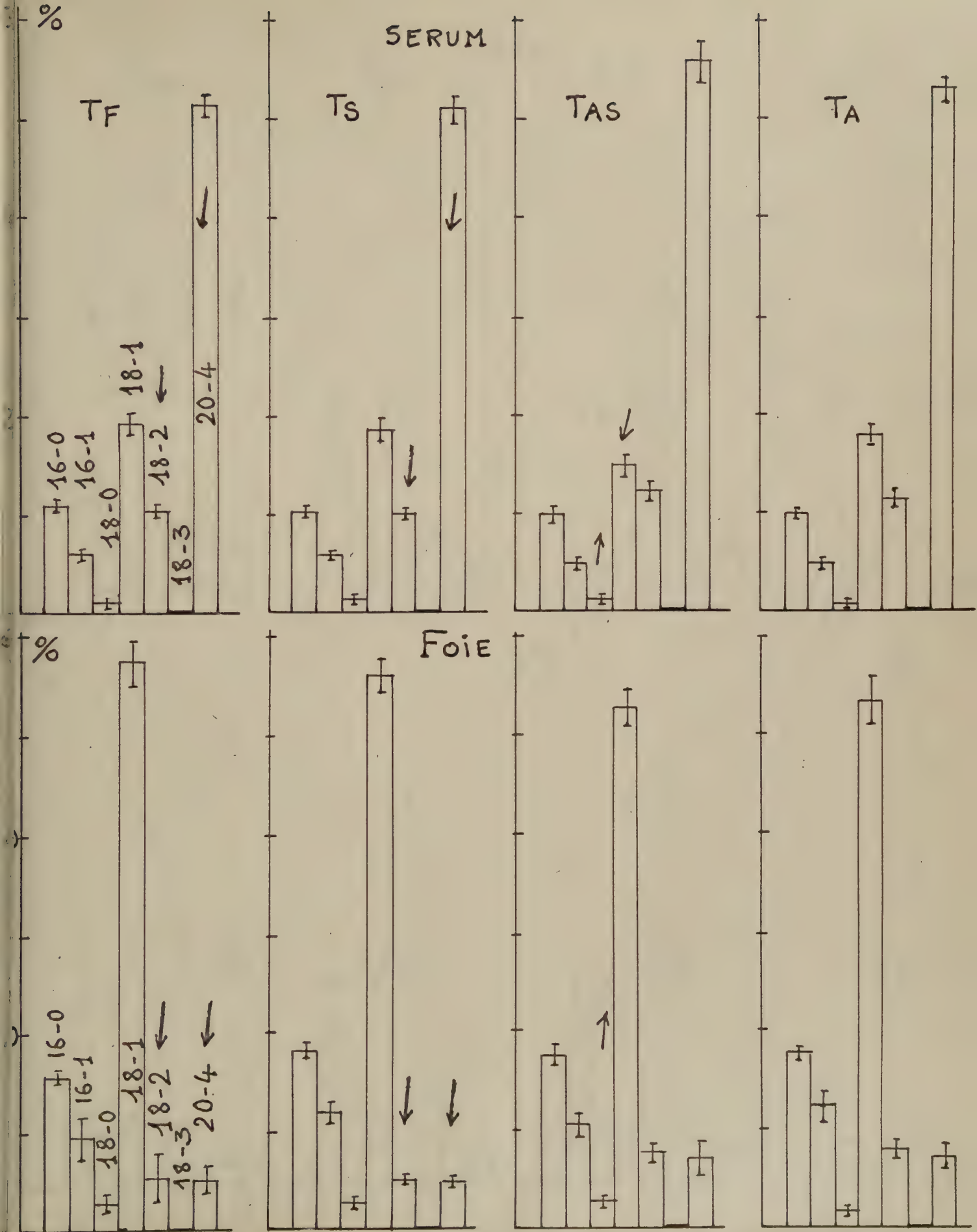


Fig.13 : Effets de la nature des glucides du régime sur les acides gras des esters du cholestérol . Rats adaptés à 30°C.

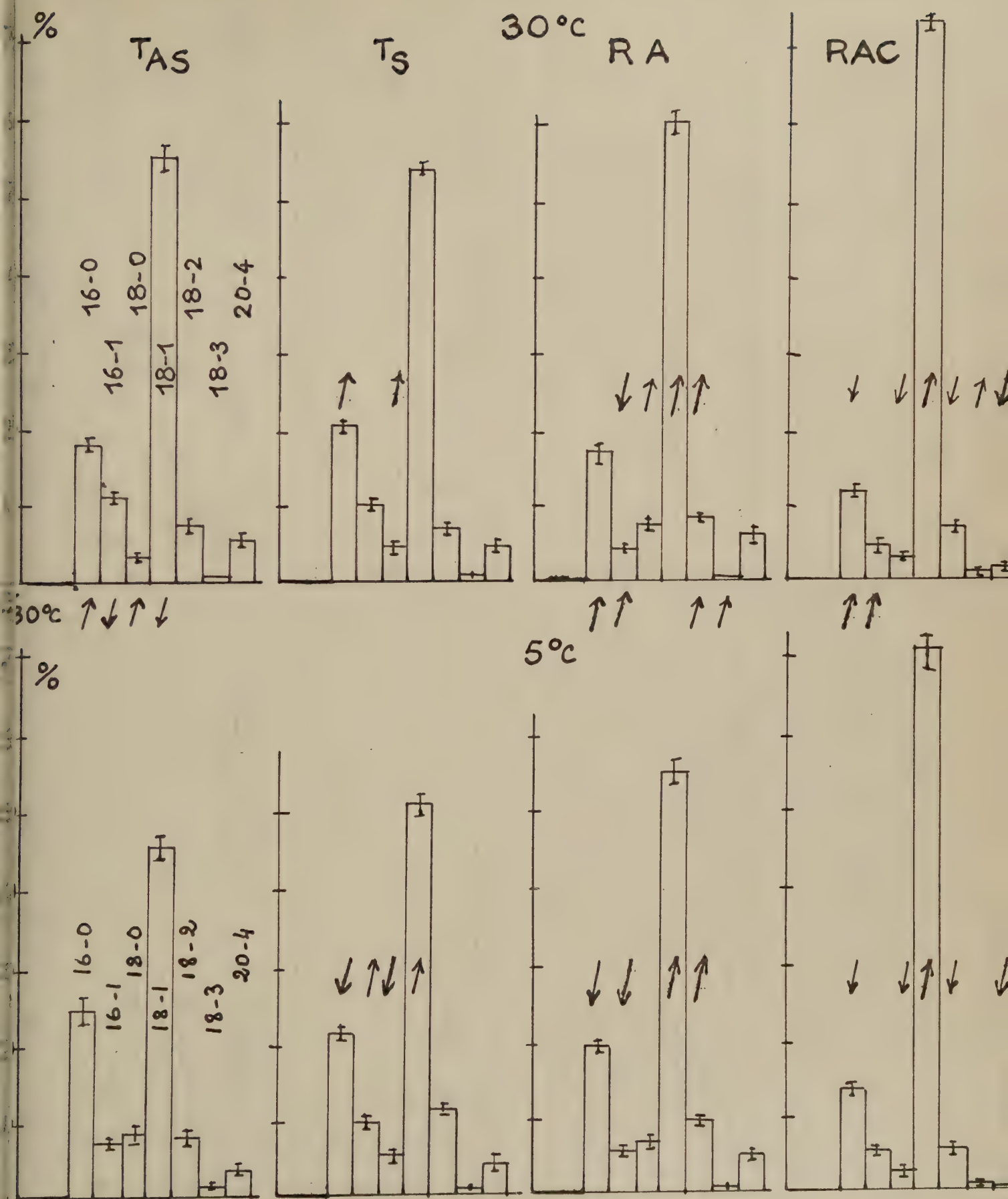


FIGURE 14: Acides gras des esters du cholestérol hépatique

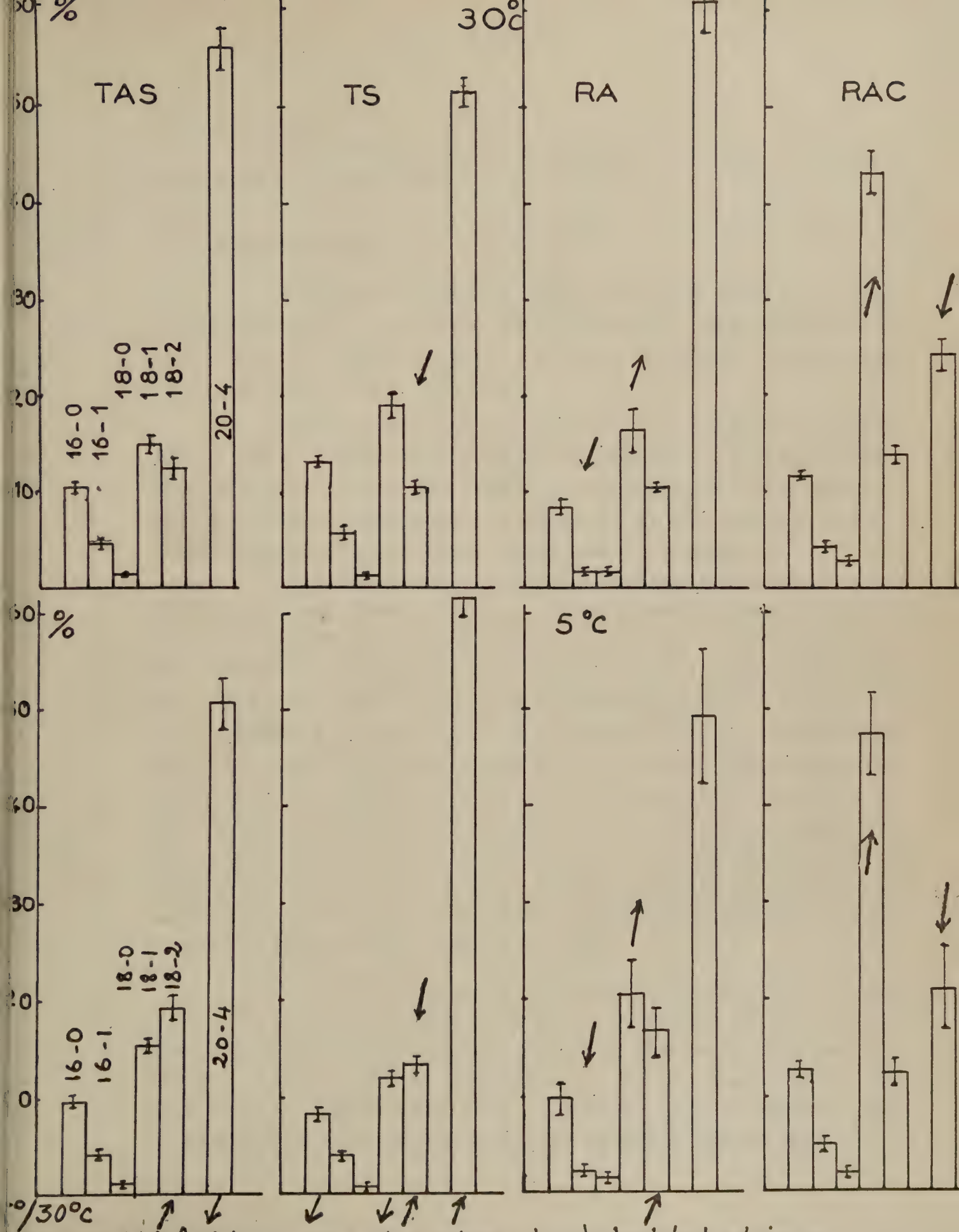


FIGURE 14: Acides gras des esters du cholestérol sérique.

20=4 (3 fois).

L'adaptation au froid augmente les taux du $C_{18}=2$ sauf pour le régime RAC.

C) Discussion

On observe, dans la composition en acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol, des variations plus ou moins importantes sous l'effet du régime alimentaire et de la température d'élevage.

a) Les compositions en acides gras des triglycérides du sérum, du foie et de l'épididyme sont voisines. Ceci implique que, malgré les nombreux remaniements intervenant dans les tissus hépatique et adipeux, la composition des triglycérides étudiés reste pratiquement constante.

Il n'en est pas de même pour les esters du cholestérol qui sont, dans le sérum, surtout estérifiés par de l'acide arachidonique et, dans le foie, par de l'acide oléique. Ces différences suggèrent que l'estérification du cholestérol peut se faire aussi bien dans le sérum que dans le foie. Dès 1935, SPERRY a observé qu'il y a augmentation du cholestérol estérifié dans le sérum incubé à 37°C, ce qui indiquerait la présence d'un enzyme estérifiant le cholestérol. De même, AFTERGOOD et ALFIN-SLATER (1967) montrent que le plasma des rats présente une activité d'estérification du cholestérol variant avec la teneur du régime en lipides. Les phospholipides seraient la source d'acides gras pour l'estérification du cholestérol (LEBRETON et PANTALEON) 1947.

b) La température d'élevage influe peu sur la composition en acides gras des divers triglycérides et ne modifie pas leur degré de saturation. Pour les esters du cholestérol sérique, seulement, il apparaît, à 5°C, une augmentation du taux d'acide linoléique. Dans le foie on note uniquement avec le régime TAS, une augmentation du taux des acides gras en

C₁₆ et C₁₈ aux dépens de leurs homologues mono-insaturés.

c) Sous l'effet des régimes, par contre, on observe un plus grand nombre de variations des taux relatifs d'acides gras. Les régimes contenant du fructose et du saccharose produisent essentiellement une diminution du taux d'acide linoléique dans les triglycérides et esters du cholestérol. Cette diminution n'est cependant pas proportionnelle à la teneur du régime en fructose.

Depuis ces dernières années, de très nombreux travaux ont été poursuivis sur les effets des différents sucres alimentaires sur les lipides circulants de l'Homme (MAC DONALD 1964-1965-1967, MAC GANDY et coll. (1966), et de plusieurs espèces animales (PORTMAN et coll. (1956), FILLIOS et coll. (1956), GRANT et FAHRENBACH (1959). Il a été observé (KUO et BASSETT (1965)) des modifications de la composition en acides gras des triglycérides, du cholestérol estérifié et des lécithines sériques, d'individus nourris avec un régime normal ou riche en amidon. Ces variations portent, en particulier, sur la diminution du taux d'acide linoléique des 3 fractions étudiées, avec une augmentation du taux des acides palmitique, palmitoléique et oléique.

Nous avons obtenu, chez le Rat, des résultats semblables.

Dans nos expériences, le régime hyperlipidique diminue, de façon constante, les taux d'acide palmitoléique. Le taux du C₁₈=2 est abaissé dans les triglycérides du sérum et de l'épididyme mais pas du foie. Quant à la surcharge en cholestérol (RAC), elle agit surtout sur les esters du cholestérol hépatique en augmentant dans des proportions importantes, le taux d'acide oléique aux dépens de celui de l'acide arachidonique. Ces variations sont retrouvées dans les esters du cholestérol sérique.

Avec ce régime, les esters du cholestérol dosés dans le foie et le sérum sont un mélange d'esters de cholestérol

d'origine endogène et exogène. Le cholestérol exogène serait principalement estérifié dans l'intestin par les acides gras du régime ; il subit ensuite des remaniements dans le foie : hydrolyse et réestérification (QUARFORDT et GOODMAN, 1967). D'après nos résultats, l'estérification du cholestérol exogène au niveau du foie se ferait surtout avec de l'acide linoléique. Les esters hépatiques sont ensuite remis en circulation par des échanges avec le plasma ou par libération des lipoprotéines.

La composition des triglycérides sériques et épидимaux est peu affectée par le régime.

d) Les modifications des esters du cholestérol hépatique sous l'effet d'un apport de cholestérol exogène ainsi que la diminution du taux de l'acide linoélique sérique avec les régimes riches en saccharose paraissent être les résultats les plus importants de cette étude des acides gras d'estérification.

CHAPITRE V

=====

⁹ ETUDE HISTOLOGIQUE D'ORGANES et GLANDES ENDOCRINES

Les rats sont sacrifiés après 10 à 11 mois de régime. L'aorte, le coeur, les reins, les surrénales et la thyroïde sont prélevés.

1°) Aorte (fig. 15)

Des lésions ont été observées au niveau de la crosse et de la partie abdominale de l'aorte.

Les divers aspects des lésions ont été appréciés de la manière suivante :

0 = aorte normale

+ = l'intima est épaissie et commence à être envahie par du collagène = petit athérome.

++ = athérome caractérisé : l'intima est épaissie par du tissu collagène, l'aspect de la média est modifié dans la partie sous-jacente à la lésion = les lames élastiques sont espacées.

+++ = athérome volumineux : l'intima est épaissie et présente des cellules hypertrophiées avec des noyaux pycnotiques. Les lames de la média sous-jacente sont dissociées (Fig. 15').

++++ = athérome avec cristaux lipidiques au sein de l'intima.

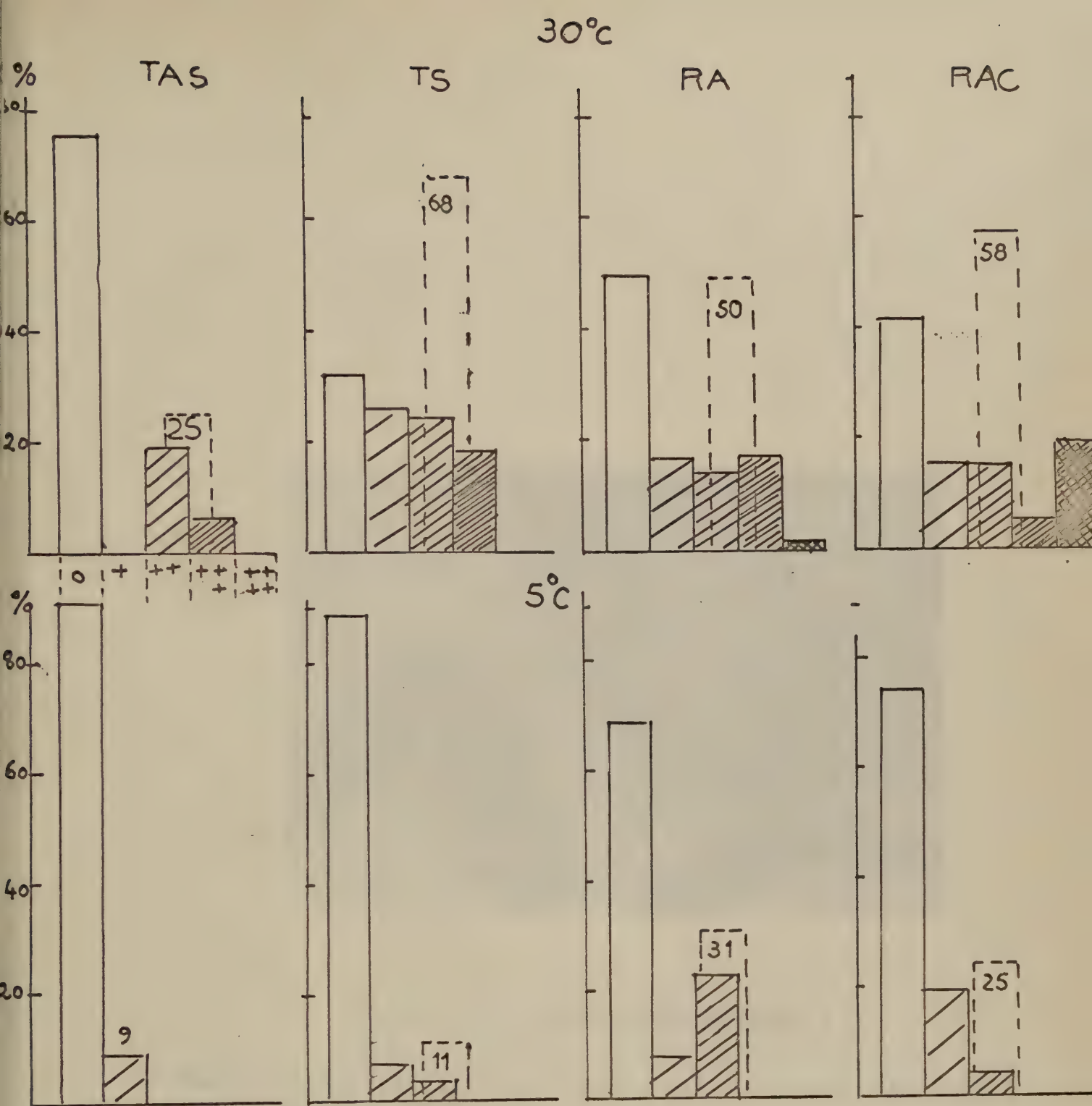


FIGURE 15 :
FRÉQUENCE ET GRAVITÉ DE L'ATHÉROME

▬ Absence d'athérome

▬ Fréquence totale d'athéromes. (%)

Le nombre de + représente le degré de gravité de l'athérome

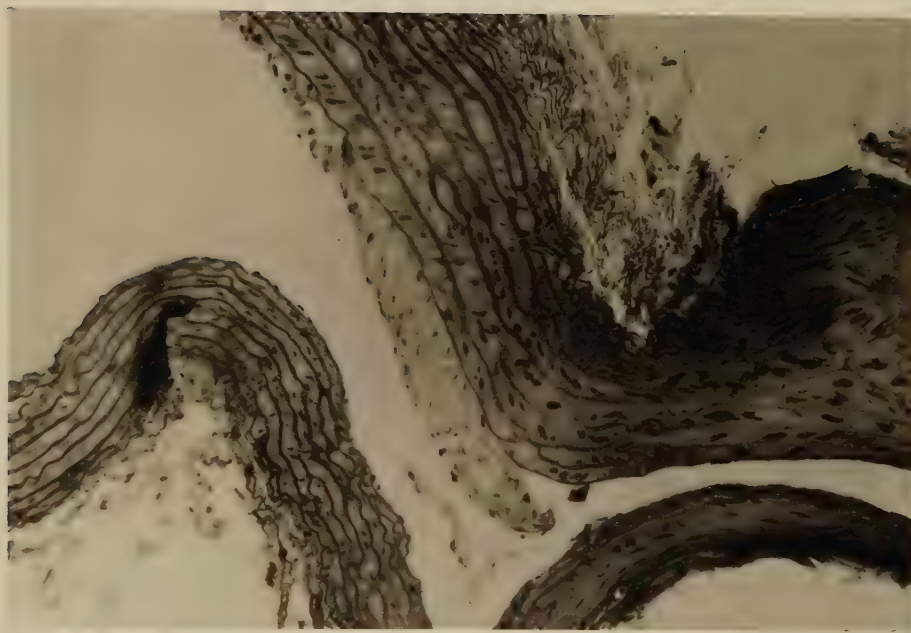


Figure 15' - AORTE ATHEROMATEUSE :

- Une portion athéromateuse et une portion normale de la même paroi aortique se font vis-à-vis.
- L'intima est envahie de cellules hypertrophiées à cytoplasme clair et noyau pycnotique.
- Les lames élastiques de la média altérée sont beaucoup plus espacées que dans la partie indemne.

(G x 600)

Résultats

Comme nous l'avons déjà constaté dans la première série expérimentale, l'athérome apparaît plus fréquemment chez les rats vivant à 30°C (58 %) que chez ceux maintenus à 5°C (22 %). Le degré de gravité est aussi plus grand à 30°C. La plus grande proportion d'athéromes est obtenue avec le régime TS (68 %) ; le pouvoir athérogène des régimes hyperlipidiques est moindre, tout en restant élevé (50 % avec le régime RA et 58 % avec le régime RAC). Il faut noter, avec ce dernier régime, une incidence élevée d'athéromes volumineux avec dépôts de cristaux lipidiques.

En plus des effets athérogènes de la température et du régime TS, nos résultats font apparaître une moins grande incidence d'athéromes chez les rats adaptés à 30°C et soumis au régime TAS : 25 % des rats seulement sont atteints. A 5°C, par contre, il n'apparaît pas de différence entre les 2 régimes riches en glucides. Ceci peut être dû au faible pourcentage d'athéromes trouvé dans les 2 cas (10 %).

L'effet athérogène du régime TS à 30°C paraît être dû à sa forte teneur en saccharose et peut-être à la présence de fructose dans la molécule de ce sucre.

L'ensemble de ces résultats sera discuté par la suite.

2°) Autres organes et glandes endocrines (Fig. 16 et 16')

a) Coeur

Les altérations observées au niveau du coeur consistent soit en un épaissement de l'endocarde et de l'intima aortique, soit en une atteinte du myocarde avec envahissement fibreux et lymphoïde.

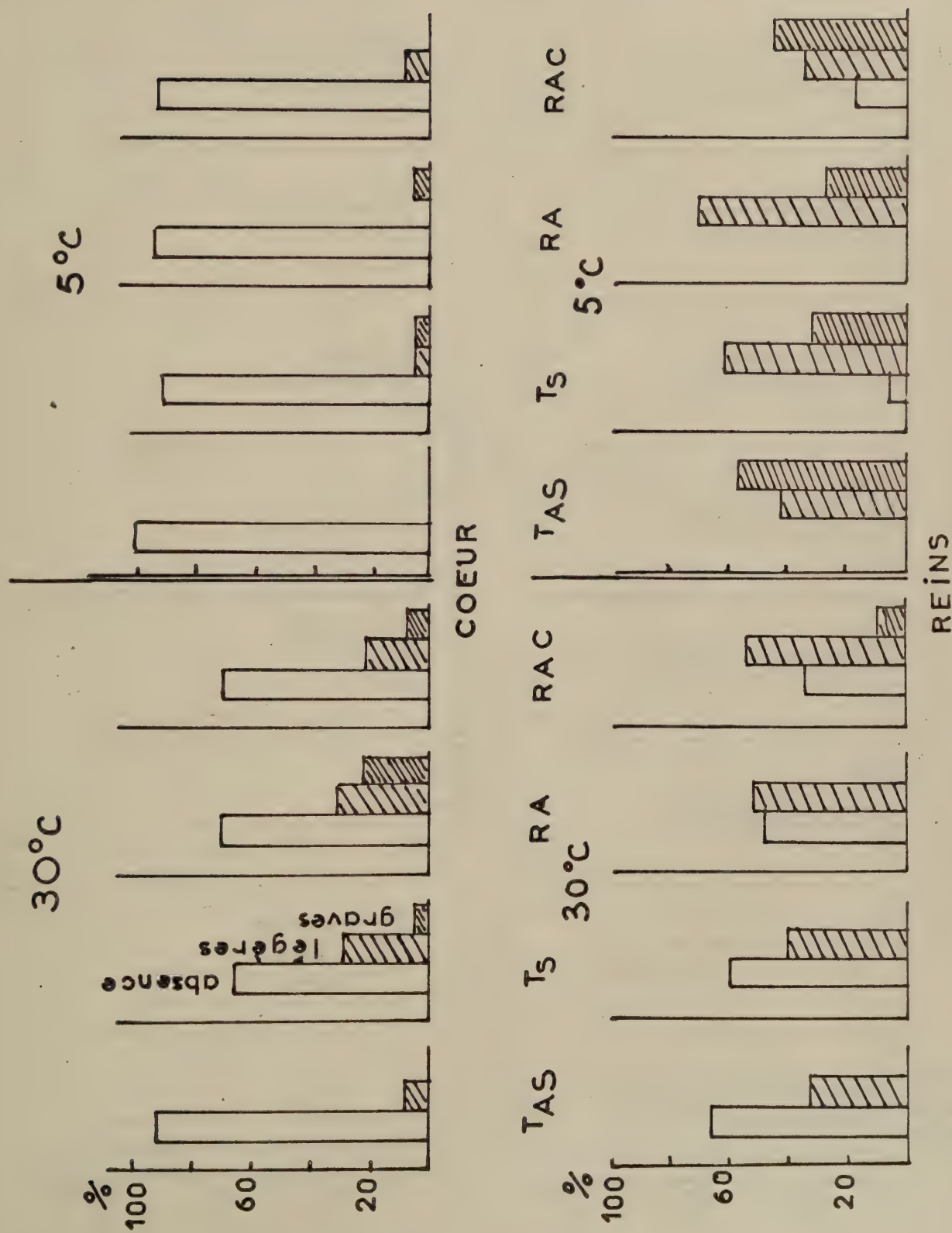


FIGURE 16 : ÉTUDE HISTOLOGIQUE
D'ORGANES. FRÉQUENCE ET GRAVITÉ DES LÉSIONS

30°C

5°C

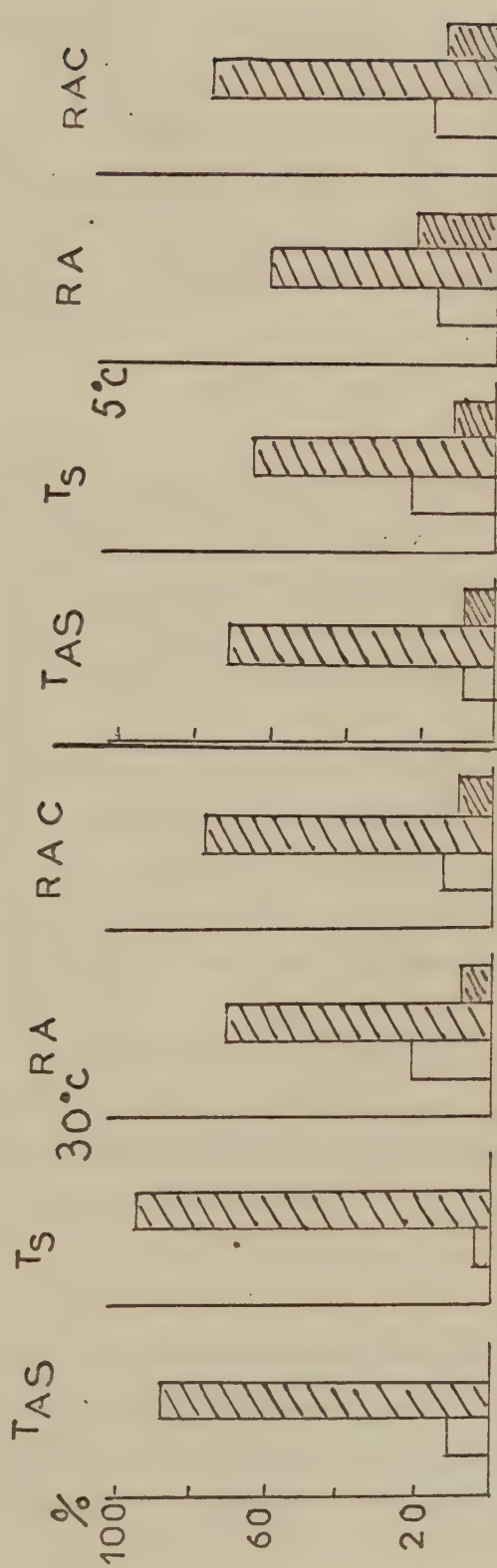
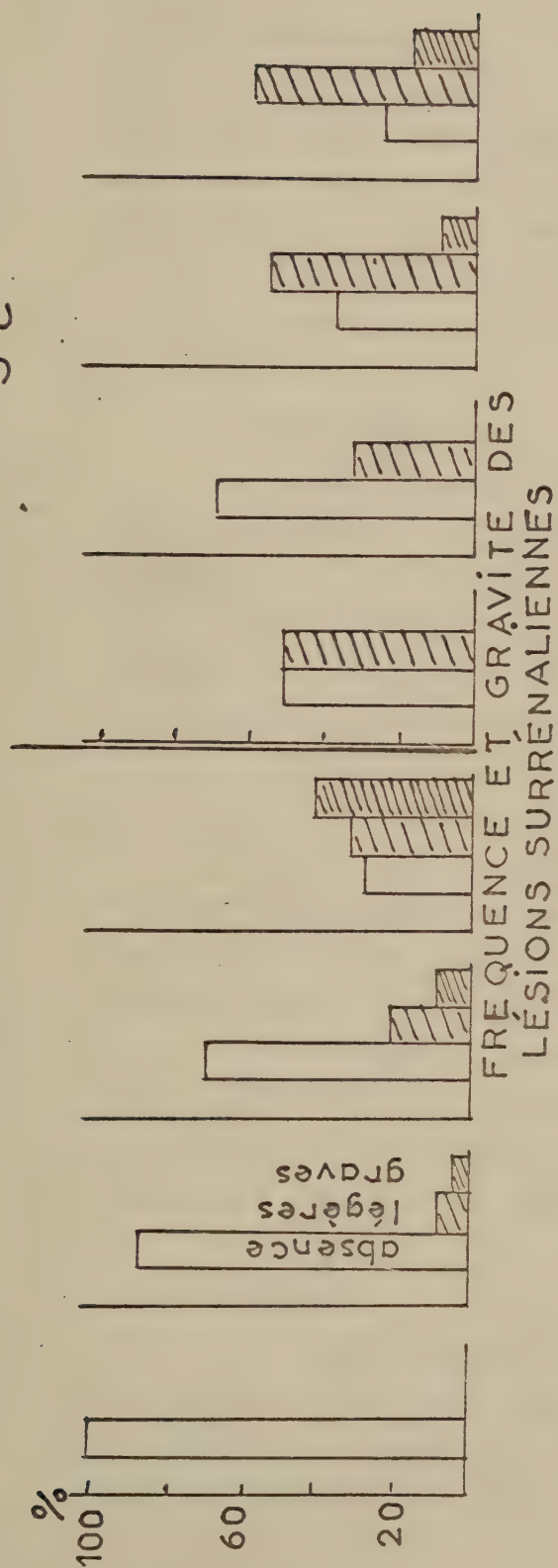


FIGURE 16: IMAGES HISTOLOGIQUES DU FONCTIONNEMENT

THYROÏDIEN

hypo
normal
hyper

Ces types de lésions sont pratiquement inexistants chez les rats adaptés au froid (3 cas sur 56), par contre, comme pour l'aorte, on constate plus d'altérations à 30°C (35 %). La fréquence est la même pour les régimes TS, RA et RAC, mais est faible avec le régime TAS (7 %). Ces lésions n'apparaissent en général que chez les rats atteints d'athérome aortique, mais sont moins fréquentes. Le régime et la température d'élevage paraissent donc avoir la même influence sur le coeur que sur l'aorte.

b) Surrénales

Les lésions des surrénales sont localisées dans la zone fasciculée de la corticale ; elles consistent, le plus souvent, en une dilatation des spongiocytes. Il apparaît aussi des lésions plus graves caractérisées par un envahissement lipidique de tout le cortex, conduisant à une spectaculaire hypertrophie spongiocytaire.

On observe un effet du régime sur la fréquence et la gravité des lésions. Les régimes T ne produisent que peu de lésions ; la fréquence et la gravité est augmentée par les régimes hyperlipidiques et principalement par le régime RAC. Les lésions sont plus fréquentes chez les animaux adaptés au froid, sauf avec le régime RAC.

Il faut retenir de ces examens, sous l'effet du régime additionné de cholestérol, une augmentation très importante des infiltrations lipidiques de la cortico-surrénale qui sont plus fréquentes chez les animaux adaptés au froid.

c) Reins

Les lésions rénales sont caractérisées par une vacuolisation des cellules des tubes proximaux avec apparition de nombreux cylindres. Les lésions plus graves font apparaître une dégénérescence cellulaire avec pycnose nucléaire.

Ces lésions se produisent chez tous les rats adaptés au froid ; la gravité de celles-ci est augmentée par la surcharge de cholestérol du régime. Chez les rats adaptés à 30°C, la fréquence des lésions est plus faible.

Comme ceci avait déjà été signalé (SELLERS et YOU, 1956, HEROUX, 1960), une dégénérescence rénale a été observée chez les rats ayant subi un maintien prolongé à basse température ; elle se trouve aggravée par l'addition de cholestérol au régime.

d) Thyroïde

L'examen histologique de la thyroïde fait apparaître en général des images d'un fonctionnement normal de la glande. La température d'élevage et même le régime surchargé de cholestérol ne semblent pas avoir d'effet.

3°) Discussion

a) Effet de la température

L'étude histologique de quelques organes et glandes endocrines montre que le maintien prolongé du rat à basse température provoque une dégénérescence rénale, ainsi qu'une infiltration lipidique du cortex surrénalien. Par contre, il protège relativement les animaux contre l'apparition des lésions cardiaques et aortiques.

Ces résultats ne concordent que pour les reins avec ceux de SELLERS et YOU (1956) qui trouvent que l'exposition prolongée au froid (9 à 15 mois à 1°C - 4°C), augmente l'apparition de la sclérose rénale ainsi que l'incidence et la sévérité des lésions coronariennes, qui consistent en des dépôts lipidiques de l'intima. Ils suggèrent que ces lésions peuvent être considérées comme une expression de sénescence

précoce résultant d'une augmentation chronique de l'activité métabolique induite par l'exposition au froid.

HEROUX (1960) confirme que l'exposition continue au froid (16 à 21 mois) modifie l'âge d'apparition et l'incidence de maladies survenant normalement chez le Rat blanc, mais produit seulement une faible réduction de la durée de vie. Cependant, la coexistence de l'hypoplasie testiculaire, de la glomérulonéphrite et de la fibrose du myocarde sont suffisamment fréquents pour suggérer l'apparition d'un syndrome de l'adaptation au froid.

WILGRAM (1959) trouve que le développement des lésions fibreuses observées chez les vieux rats blancs serait accéléré au froid. Il obtient des lésions coronariennes chez des rats exposés au froid et nourris pendant 12 mois avec un régime semi-synthétique contenant 1 % de cholestérol et 0,2% de choléate.

SELLERS et BAKER (1960) produisent des lésions coronariennes sévères ressemblant à de l'athérosclérose chez des animaux âgés (plus de 18 mois) et nourris avec un régime riche en graisse, additionné de 2 % de cholestérol pendant seulement 6 semaines. L'incidence et la sévérité des lésions est augmentée quand ces rats ont été exposés de façon continue au froid, avant et pendant la période expérimentale. Donc, les rats très âgés et, en particulier, ceux qui ont vécu au froid sont prédisposés à développer des lésions athéromateuses lorsqu'ils sont nourris avec un régime contenant du cholestérol.

HARTROFT et coll. (1952) obtiennent, chez de jeunes rats élevés à température normale, et soumis à des régimes sans choline pendant 216 jours, des dépôts lipidiques de l'intima avec altération de la média des artères coronariennes et de l'aorte. Il en conclue que la choline est nécessaire, non seulement au maintien du bon état du foie et des reins, mais aussi du système cardiovasculaire. Le dépôt intimal, premier stade de la lésion, peut former une barrière de telle sorte

que la pénétration de la zone centrale de la média, par les liquides nourrissants, est inhibée à un tel degré qu'à cet endroit, les tissus meurent et se calcifient.

Dans notre cas, on peut donc supposer que les lésions aortiques observées à 30°C sont des lésions apparaissant normalement chez les rats de la souche Long Evans, âgés de plus d'un an, et nourris avec des régimes contenant des facteurs lipotropes (choline et inositol). A 5°C, l'effet lipotrope du froid, de même qu'il prévient l'accumulation de triglycérides dans le foie et dans la graisse épидидymale, ainsi que nous l'avons vu, prévient le dépôt de substances lipidiques dans l'intima et empêche le développement de lésions artérielles à 30°C, peut être selon le processus décrit par HARTROFT.

b) Effet des régimes

La surcharge du régime en lipides accentue l'infiltration lipidique des surrénales, mais n'augmente pas la fréquence des lésions de l'aorte, du coeur et des reins. Par contre, l'addition de cholestérol au régime gras, aggrave les lésions observées sur les reins, les surrénales et l'aorte chez les adaptés à 30°C.

CHAPITRE VI

=====

RELATION ENTRE L'ATHÉROGÈNESE et LE MÉTABOLISME DES LIPIDES

A) Régimes

1°) Lipides sériques

a) Il paraît logique de rechercher une relation entre le métabolisme des lipides et l'apparition des lésions vasculaires de type athéromateux, dont le stade initial serait une infiltration lipidique de l'intima des vaisseaux.

Chez l'Homme, le syndrome humoral de l'athérosclérose n'a pas été bien défini. Cependant, il existe chez la plupart des athéroscléreux des perturbations lipidiques intéressant surtout le métabolisme des triglycérides (RAYNAUD et BROCHIER, 1961). D'après ces auteurs, les taux de cholestérol, des lipides totaux, les tests de BURSTEIN et de KUNKEL sont peu significatifs. Le trouble humoral le plus caractéristique est l'association d'une hyperlipoprotéïnémie β lente et très lente, d'une épreuve hypervitaminémie A positive et d'une hypercoagulabilité globale.

b) Chez les animaux qui ne sont pas sujets à l'athérosclérose spontanée (Lapin, Rat), une surcharge alimentaire en cholestérol qui provoque une élévation très importante de la lipémie et de la cholestérolémie ainsi que des β lipoprotéines (JONES et coll., 1951, FILLIOS et coll. 1956, WILGRAM

1959, RENAUD et ALLARD 1964) produit des lésions athéromateuses étendues.

Nous avons cherché à établir des corrélations entre la fréquence d'apparition de l'athérome et le taux des lipides sériques que nous avons déterminés chez les rats nourris avec le régime TS, régime le plus athérogène. Nous avons vu, que chez les rats adaptés à 30°C, la substitution d'une partie de l'amidon par du saccharose multiplie par 3 la fréquence d'apparition de l'athérome. Or, le régime à base de saccharose (TS) n'augmente pas le taux de cholestérol circulant ; par contre, le régime surchargé de cholestérol (RAC) qui donne une cholestérolémie élevée a un effet athérogène plus faible que le régime TS. Il n'apparaît donc pas de corrélation entre le niveau de la cholestérolémie et la fréquence de l'athérome.

Quelque soit le pouvoir athérogène du régime, le rapport d'estérification du cholestérol n'est pas significativement différent. MOORE (1964), étudiant l'effet des régimes contenant des graisses variées sans adjonction de cholestérol, sur la concentration plasmatique et le degré de dégénérescence athéromateuse chez le Lapin, ne trouve pas non plus de relation simple entre la quantité de cholestérol plasmatique et l'athérome aortique. Le pouvoir athérogène des régimes ne paraît donc pas toujours être en relation directe avec leur action hypercholestérolémiant.

c) Dans le cas du régime à base de saccharose, on peut attribuer son effet pathologique au fructose provenant de l'hydrolyse du diholoside. On sait que la voie de dégradation du fructose est différente de celle du glucose : la voie fructokinasiqye conduit directement aux trioses. Il en résulte une conversion plus rapide du fructose en pyruvate. La formation accrue de pyruvate doit favoriser une plus grande production d'acétyl coenzyme A, dont l'excès peut être utilisé pour la synthèse d'acides gras ou de cholestérol. Cette hypothèse est

avancée par quelques auteurs, en particulier par ZAKIM et coll. (1967) et BAILEY et coll. (1968), pour expliquer l'augmentation des lipides circulants lors de l'administration d'une alimentation à base de saccharose. Cependant, nous n'avons pas trouvé de variation du taux des lipides sériques ni hépatiques après administration prolongée, à 30°C, de régimes à base de fructose, de saccharose et d'amidon.

d) Peu de corrélation ont été trouvées avec le taux des autres lipides circulants. Il faut signaler une diminution du taux des phospholipides avec le régime TAS peu athérogène. De plus, avec les régimes non surchargés de cholestérol, on observe une diminution du taux des triglycérides chez les rats adaptés au froid qui ont peu d'athérome.

2°) Acides gras des triglycérides et des esters du cholestérol

L'étude de la composition des triglycérides sériques, hépatiques et de l'épididyme montre que le régime le moins athérogène (TAS) provoque, par rapport aux autres régimes, une augmentation du taux de l'acide linoléique associée dans le sérum à une diminution du taux de l'acide stéarique. Le régime contenant de l'amidon provoque également dans les esters du cholestérol hépatique et sérique une augmentation du taux d'acides polyinsaturés : 18 = 2 et 20 = 4.

On a dit que l'apport d'acide linoléique est le même pour les régimes témoins et double pour les régimes hyperlipidiques. On sait que cet acide est un constituant des phospholipides, l'augmentation de son taux dans les triglycérides et les esters du cholestérol peut être en relation avec la diminution des phospholipides sériques constatée avec le régime TAS.

B) Température

L'athérome est moins fréquent à 5°C qu'à 30°C. Il y aurait donc un effet "protecteur" du froid vis-à-vis du développement des lésions athéromateuses.

Cependant, les quelques variations des lipides sériques observées avec le régime le moins athérogène ne se retrouvent pas sous l'effet de l'adaptation à basse température.

D'autre part, chez les rats adaptés au froid, on ne note d'augmentation du taux d'acide linoléique que dans les esters du cholestérol sérique.

Cet effet de l'adaptation à basse température pourrait être dû à certaines modifications du métabolisme lipidique qui ont été constatées. En particulier un changement des formes de transport des lipides circulants peut être mis en parallèle avec le développement des lésions de type athéromateux. On note en effet, à la température la moins athérogène (5°C), un rapport α/β lipoprotéines sériques significativement plus élevé par rapport à celui observé chez les rats adaptés à 30°C. Il faut remarquer que, chez ces derniers, ce rapport ne varie pas en fonction de l'athérogénicité des régimes. D'autre part, bien que l'on ne possède pas chez le Rat de renseignement sur la synthèse des lipides de la paroi aortique, on peut penser que le métabolisme accéléré des substrats fournis par l'alimentation ne favorise pas, chez les rats adaptés au froid, de dépôts de substances lipidiques au niveau de l'aorte.

C O N C L U S I O N

=====

Nous nous sommes proposés de faire, chez le rat mâle Long Evans, une étude d'un certain nombre de modifications somatiques, physiologiques et biochimiques provoquées par le maintien prolongé (un an environ) de rats à divers régimes alimentaires. Les animaux sont adaptés, soit au froid (5°C), soit à une température voisine de leur neutralité thermique (30°C).

Les régimes utilisés contiennent 5 % de lipides et 50 % de glucides (régimes T), ou bien 30 % de lipides et 21 % de glucides (régime RA). Dans les régimes témoins, les glucides utilisés sont de natures diverses : fructose (TF), saccharose (TS), amidon-saccharose (TAS), amidon (TA)). Les effets d'un régime "athérogène" à 30 % de lipides et additionné de 2 % de cholestérol (RAC) ont également été étudiés.

a) Utilisation énergétique des régimes

Les courbes de croissance indiquent que les régimes sont, en général, bien tolérés pendant un an. Cependant, la prise pondérale des rats adaptés à 5°C est inférieure à celle des animaux maintenus à 30°C. Des déterminations des lipides de la carcasse ont montré que ces différences de poids ne pouvaient être expliquées qu'en partie par une diminution de la masse lipidique, et qu'il y aurait, au froid, inhibition partielle du développement des animaux.

Les régimes hyperlipidiques favorisent la croissance

pondérale ; cependant, avec le régime surchargé en cholestérol (RAC), on constate un amaigrissement des animaux après un an de régime. L'étude de l'utilisation digestive des différents régimes a montré que la surcharge lipidique alimentaire est bien supportée dès le début de l'administration.

L'ingestion calorique des rats adaptés à 5°C est le double de celle des animaux maintenus à 30°C, ainsi que leurs échanges respiratoires. Des études du Q.R. font apparaître l'abaissement normal de ce paramètre avec les régimes hyperlipidiques. Le Q.R. est plus faible chez les rats adaptés au froid par rapport à ceux adaptés à 30°C et soumis aux mêmes régimes. Cet abaissement peut s'expliquer par un accroissement de la lipogénèse, due au phénomène d'adaptation. Une autre conséquence de l'adaptation au froid est l'augmentation de la pression artérielle et du rythme cardiaque.

b) Lipides des organes

La masse relative des organes (foie, reins, coeur, surrénales) est augmentée par l'adaptation au froid ; elle n'est pas changée par le régime hyperlipidique, mais le régime (RAC) produit une infiltration lipidique du foie et des surrénales.

La composition lipidique des organes est également affectée par l'adaptation à basse température et par le régime.

- Le froid a un léger effet lipotrope sur le foie, mais n'empêche cependant pas la stéatose provoquée par l'addition de cholestérol au régime. Il ne modifie pas la teneur des lipides hépatiques en cholestérol, ni le degré de saturation des triglycérides. Le froid agit peu sur la composition des esters du cholestérol ; on observe, seulement avec TAS, une augmentation du taux des acides gras saturés.

- L'administration de régimes contenant du saccharose (TAS et TS) ou du fructose (TF) ne modifie pas les taux des lipides totaux et du cholestérol total du foie. On note, par contre, un effet sur les acides gras estérifiant les triglycérides ou le cholestérol : en particulier, les taux d'acide linoléique et d'acide arachidonique sont abaissés dans les triglycérides.

- Avec le régime (RA), on observe une augmentation du taux d'acide oléique des triglycérides et des esters du cholestérol.

- La surcharge en cholestérol (RAC) augmente également le taux relatif d'acide oléique dans les triglycérides et les esters du cholestérol.

La composition des lipides de l'épididyme est peu modifiée par la température et les régimes. Il apparaît seulement aux 2 températures une diminution de la teneur relative de l'acide linoléique des triglycérides, sous l'effet des régimes (TS) et (RA).

L'adaptation au froid change la composition du tissu adipeux brun. A 30°C, ce tissu a une teneur en lipides comparable à celle de l'épididyme, alors qu'à 5°C, il en contient deux fois moins, et la teneur en cholestérol de ses lipides est augmentée. Le régime RAC élève la teneur en cholestérol des 2 tissus adipeux.

c) Lipides sériques

L'adaptation au froid, ni la nature des sucres, n'affectent le taux des lipides totaux sériques pour les régimes témoins. Ce taux est, par contre, accru avec les régimes RA et RAC.

L'étude des lipoprotéines sériques fait apparaître

une augmentation du rapport α/β lipoprotéines chez les rats adaptés au froid, les α étant relativement plus riches en cholestérol.

La surcharge lipidique du régime n'augmente pas les taux relatifs des 2 classes de lipoprotéines ; par contre, la surcharge de cholestérol provoque une forte augmentation du taux des β et de leur teneur en cholestérol. On en déduit que le cholestérol exogène est essentiellement transporté par les lipoprotéines de faible densité (β).

La teneur du sérum en cholestérol total croît sous l'effet de l'adaptation au froid. Par comparaison avec les régimes TAS et TS, le régime RA n'affecte pas la teneur en cholestérol qui est cependant très augmenté quand on en surcharge le régime. Dans tous les groupes, le rapport d'estérification de cholestérol est voisin de 0,76.

Le taux de phospholipides circulants, plus élevé à 5°C qu'à 30°C, est augmenté par la surcharge du régime en cholestérol (RAC). Le taux des triglycérides est également augmenté par le régime (RAC) et est plus faible à 5° qu'à 30°C avec les autres régimes.

La composition en acides gras des triglycérides sériques est peu influencée par la température d'élevage qui, en particulier, ne modifie pas leur degré total de saturation. L'adaptation au froid produit une augmentation du taux d'acide linoléique des esters du cholestérol avec les régimes non additionnés de cholestérol.

L'administration du régime TS provoque, dans les triglycérides et les esters du cholestérol, une diminution du taux de l'acide linoléique. Le fructose a les mêmes effets que le saccharose sur la composition des esters du cholestérol.

Le régime hyperlipidique augmente les taux des acides gras en $C_{18} = 0$ ou $C_{18} = 1$ et diminue celui des acides en C_{16} . Le taux de $C_{18} = 2$ n'est abaissé significativement que dans les triglycérides. De même que dans le foie, le régime (RAC) modi-

fic la composition des esters du cholestérol, dont le taux d'acide oléique est très augmenté, alors que celui d'acide arachidonique est diminué.

d) Etudes histologiques

Les examens histologiques de l'aorte ont montré que la température d'adaptation et le régime ont une influence sur l'incidence des lésions athéromateuses. En effet, c'est à 30°C, que nous avons observé le plus de lésions (58 % des rats atteints à 30°C, contre 22 % à 5°C) et ces lésions sont plus graves. A 30°C, c'est le régime TS qui est le plus athérogène. Les 2 régimes hyperlipidiques (RA) et (RAC) le sont aussi, mais à un degré moindre. Le remplacement dans le régime TS, d'une partie du saccharose par de l'amidon (TAS), diminue l'incidence des lésions. La surcharge alimentaire en saccharose a donc un effet plus athérogène qu'une surcharge en lipides ou en cholestérol.

e) Corrélations entre athérome et lipides

Dans nos conditions expérimentales, nous avons trouvé peu de corrélations entre les taux des lipides circulants et l'apparition de l'athérome. Cependant, les taux des triglycérides sériques obtenus avec les régimes sans cholestérol sont moins élevés chez les rats adaptés à 5°C qui présentent le moins d'athérome. L'hypercholestérolémie n'induit pas une élévation de l'incidence des lésions.

L'étude de la composition en acides gras des triglycérides et esters du cholestérol hépatiques et sériques ainsi que des triglycérides de l'épididyme, montre que le régime le moins athérogène (TAS) provoque généralement, par rapport aux autres régimes, une augmentation de l'insaturation des acides gras des composants étudiés.

f) Conclusions

Il ressort de cette étude que :

- L'adaptation au froid modifie la composition lipidique des organes et du sérum. Elle a une action protectrice contre l'apparition d'athérome qui peut être liée à des modifications du métabolisme lipidique observées et que nous nous proposons de préciser.

- La nature des glucides donnés dans le régime a également une influence sur la composition des lipides étudiés, plus particulièrement chez les rats adaptés à 30°C. Certaines de ces variations telles que la diminution des taux d'acide linoléique des triglycérides et des esters du cholestérol sous l'effet du saccharose peuvent être reliées à l'augmentation de la fréquence d'apparition d'athérome constatée avec le régime (TS).

- L'addition de cholestérol au régime hyperlipidique, qui provoque des modifications importantes des taux et de la composition des divers lipides, ne produit pas un accroissement de la fréquence de lésions athéromateuses.

=====

BIBLIOGRAPHIE

- AFTERGOOD L. et ALFIN-SLATER R., J. Lip. Res., 1967, 8, n° 2, 130
- AUJARD C., C.R. Soc. Biol., 1953, 147, 965
- BABINEAU L.M. et PAGE E., Ann. Acfas, Canada, 1951, 17, 102
- BAILEY E., TAYLOR C.B. et BARTLEY W., Nature, 1968, 217, 5127, 471
- BLOOR W.R., J. Biol. Chem., 1916, 24, 227
- BOBEK P. et GINTER E., Br. J. Nutr., 1966, 20, 61
- BORTZ W.M., Biochem. Biophys. Acta, 1967, 3, 533
- BRIGGS A.P., J. Biol. Chem., 1922, 53, 13
- BURSTEIN M. et SAMAILLE J., Ann. Biol. Clin., 1959, 17, 23
- BURSTEIN M., Ann. Biol. Clin., 1961, 19, 335
- CHAFFEE R.R.J., ALLEN J.R., CASSUTO Y. et SMITH R.E., Am. J. Physiol., 1964, 207, 1211
- CHAIKOFF I.L., HOTTA S. et HILL R., J. Biol. Chem., 1954, 206, 835,
(cité par BERTHOLD-GODEFROY N., Thèse de Pharmacie,
28/3/60, Nancy)
- CHENIER L.P., Laval Med., 1954, 19, 243 et 381
- CHEVILLARD L. et MAYER A., Ann. Physiol. Physiochim. Biol., 1939, 15,
305 et 411
- CHEVILLARD L., CADOT M., GUNTZ M.C. et PORTET R., J. Physiol., 1962, 54,
314
- CHEVILLARD L., PORTET R. et CADOT M., Fed. Proc., 1963, 22, 3, 699
- CHEVILLARD L., CADOT M. et PORTET R., C.R. Soc. Biol., 1964, 158, 5,959
- CLEMENT G., C.R. Soc. Biol., 1947, 141, 255
- CLEMENT G., Arch. Sci. Physiol., 1950, 4, 5
- CLEMENT G., CLEMENT J. et LE BRETON E., Arch. Sci. Physiol., 1954, 8, 259
- COHEN A.M., Am. Heart J., 1963, 65, 291
- DENYES A. et HASSET J., Bull. Mus. Comp. Zool. Harv., 1960, 124, 437
- DENYES A. et CARTER J.D., Am. J. Physiol., 1961, 200, 1043
- DESMARAIS A. et GAGNON P.M., C.R. Soc. Biol., 1955, 149, 1714
- EMERY F.E., EMERY L.M. et SCHWABE E.L., Growth, 1940, 4, 17
- FAVARGER P., Exp. Ann. Biochim. Med., 1955, 17, 57
- FAWCETT O., LYMAN C., J. Physiol., London, 1954, 126, 235

- FELTS J.M. et MASORO E.J., Am. J. Physiol., 1959, 197, 34
- FILLIOS L.C., STEPHEN B.A., GEORGE V.M. et FREDERICK J.S., The J. of Expal. Med., 1956, 104, 539
- FILLIOS L.C., PORTMAN O.W., NAITO C., ANDRUS S.B. et MARTIN R.S., Amer. J. Physiol. 1958, 194, 275
- FOLCH J., LEES M. et SLOANE-STANLEY G.M., Fed. Proc., 1954, 13, 209
- GIONO H., CHEVILLARD L. et KRAUTHAMER S., J. Physiol., 1953, 45, 120
- GORDON R.S., Fed. Proc., 1960, 19, 4, part. II, 120
- GRANT W.C. et FAHRENBACH M.J., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 100, 250, 1959
- HARRISON G.A., MORTON R.J. et WEINER J.S., Phil. Trans. B., 1959, 242, 479
- HART J.S. et HEROUX O., Can. J. Biochem. Physiol., 1956, 34, 3, 414
- HARTROFT W.S., RIDOUT J.M., SELLERS E.A. et BEST C.H., Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 1952, 81, 384
- HEIM T. et KELLERMAYER M., Acta Physiol. Acad. Sc. Hung., 1966, 30, 107
- HEIM T. et KELLERMAYER M., Acta Physiol. Acad. Sc. Hung., 1967, 31, 339
- HEROUX O., Canad. J. Biochem. Physiol., 1958, 36, 289
- HEROUX O. et GRIDGEMAN N.T., Canad. J. Biochem. Physiol., 1958, 36, 209
- HEROUX O. et CAMPBELL J.S., Lab. Inv., 1960, 9, 2, 305
- HEROUX O., Rev. Canad. Biol., 1961, 20, 55
- HILL R., WEBSTER W.W., LINAZASORO J.M. et CHAIKOFF I.L., J. Lip. Res., 1960, 1, 150
- IMAI Y., HORWITZ B.A. et SMITH R.E., Proc. Soc. Expal. Biol. Med., 1968, 127, 717
- JOHANSSON B., Metabolism., 8, 221, 1959
- JONES H.B., GOFMANN J.W., LINDGREN F.T., LYON T.P., GRAHAM D.M., STRISOWER B. et NICHOLS A.V., Am. J. Med., 1951, 11, 358
- KAYSER C., C.R. Soc. Biol., 1937, 126, 1219
- KODOMA A.M. et PACE N., Fed. Proc., 1963, 22, 761
- KODOMA A.M. et PACE N., J. Appl. Physiol., 1964, 19, 863
- KUO P.T. et BASSETT D.R., Ann. Int. Med., 1965, 62, 1199, 6
- LE BLANC J., Can. J. Biochem. Physiol., 1957, 35, 25
- LEBRETON E. et PANTALEON J., Exp. Ann. Bioch. Med., 1947, 7, 111
- LEDUC J., Acta Physiol. Scand., 1961, 53, 183
- LINES J.G., Biochem. Probl. of Lipids FRAZER A.C., 1963, 1, 17
- LOPEZ A., HODGES R.E. et KREHL W.A., Amer. J. Clin. Nutr., 1966, 18, 149

- MACDONALD I. et BRAITHWAITE D.M., Clin. Sci., 1964, 27, 1, 23
- MACDONALD I., Amer. J. Clin. Nutr., 1965, 16, 458
- MACDONALD I., Acta Diabet. Lat., 1967, 4, 2, 202
- MACGANDY R.B., MYERS M.L., HEGSTED D.M. et STARE F.J., Amer. J. Clin. Nutr., 1966, 18, 4, 237
- MASORO E.J., Techn. Rep. Arctic Aeromed. Labo., 1960, n° 58, 17
- MASORO E.J., Techn. Rep. Arctic Aeromed. Labo., 1963
- MEFFERD R.B. Jr., NYMAN M.A. et WEBSTER W.W., Amer. J. Physiol., 1958, 195, 3, 744
- MENSCHIK Z., Rev. Can. Biol., 1951, 10, 80
- MIETTINEN M., Ann. Med. Exp. Biol. Fenn., 1957, 35, 168
- PAGE E. et BABINEAU L.M., Rev. Can. Biol., 1950, 9, 202
- * PAGE E. et BABINEAU L.M., Canad. J. Med. Sci., 1953, 31, 22
- PAGE E., Rev. Canad. Biol., 1957, 16, 269
- PAQUOT C., MERCIER J., MATHIEU A., LEFORT D. et PERRON R., Ann. Nutr. Alim., 1962, 16, 1-2, 217
- PERRY W.F., Can. J. Bioch. Physiol., 1958, 36, 237
- POLONOVSKI J. et PETIT M., Bull. Soc. Chim. Biol., 1963, 45, 1, 111
- PORTMAN O.W., LAWRY E.Y. et BRUNO D., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1956, 91, 321
- QUARFORDT S.H., GOODMAN D.S., J. Lip. Res., 1967, 8, 3, 264
- RAYNAUD R. et BROCHIER M., L'Athérosclérose, MASSON, 1961, 55
- RENAUD S. et ALLARD C., J. Nutr., 1964, 83, 149
- SELLERS E.A. et YOU R.W., Science, 1949, 110, 713
- SELLERS E.A. et YOU R.W., Biochem. J., 1952, 51, 573
- SELLERS E.A., YOU R.W. et MOFFAT N.M., Am. J. Physiol., 1954, 177, 367
- SELLERS E.A. et YOU R.W., Br. Med. J., 1956, 1, 815
- SELLERS E.A. et BAKER D.G., Canad. Med. Ass. J., 1960, 83, 6
- SINCLAIR R.G. et CHIPMAN R., J. Biol. Chem., 1947, 167, 773
- SMITH R.E., Fed. Proc., 1962, 21, 221
- SMITH R.E. et HOIJER D.J., Physiol. Rev., 1962, 42, 60
- SMITH R.E. et ROBERTS J.C., Am. J. Physiol., 1964, 206, 143
- SMITH R.E. et HORWITZ B., Physiol. Rev., 1969, 49, 2, 330
- SPERRY W.M. et STOVANOFF V.A., J. Nutr., 1935, 9, 131
- SPERRY W.M., J. Biol. Chem., 1935, 111, 467

- SPERRY W.N. et WEBB M., J. Biol. Chem., 1950, 187, 97
- TREADWELL C.R., Tech. Rep. Artic Aeromedical Lab. FORT WAINWRIGHT, 1961,
60,18
- WHITNEY J.E. et ROBERTS S., Am. J. Physiol., 1955, 181, 2, 446
- WILGRAM G.F., The J. of Exp. Med., 1959, 109, 293
- WILLIAM D.D. et PLATNER W.S., Am. J. Physiol., 1967, 212, 167
- WOOD J.D., Canad. J. Physiol. a Pharm., 1964, 42, 6, 779
- YOUNG D. et COOK S., Amer. J. Physiol., 1955, 181, 72
- YUDKIN J., Lancet, 1964, 2, 4
- YUDKIN J. et MORLAND J., Am. J. Clin. Nutr., 1967, 20, 503
- ZAK B., DICKENMANN R.C., WHITE E.G., BURNETT H. et CHERNEY P.J., Amer. J. Clin. Pathol., 1954, 24, 1307
- * ZAKIM D., HERMAN R.H., PARDINI R.S. et SAUBERLICH H.E., Biochim. Biophys. Acta, 1967, 144, 242
- ZUCKERMANN J.L., ZYMARIS M.C. et NATELSON S., J. Lab. Clin. Med., 1949,
34, 282

Ce travail a fait l'objet des publications suivantes :

Effets physiologiques de régimes hyperlipidiques et hyperprotidiques chez le Rat adapté à diverses températures.

L. CHEVILLARD, R. PORTET et C. BOURNIQUE.- C. R. Soc. Biol.- 1964, 153, 701.

Constituants lipidiques du sang chez le Rat adapté à diverses températures d'élevage et soumis à divers régimes hyperlipidiques et hyperprotidiques.

C. BOURNIQUE, R. PORTET et L. CHEVILLARD.- C.R. Soc. Biol.- 1964, 153, 95.

Effet des régimes hyperlipidiques et hyperprotidiques sur les lipoprotéines du Rat. Influence de la température d'élevage.

C. BOURNIQUE, M.T. HLUSZKO, R. PORTET et L. CHEVILLARD.- C.R. Soc. Biol.- 1965, 159, 306.

Effects of cold adaptation and fat and cholesterol enriched diets on rat serum lipids.

R. PORTET, C. BOURNIQUE et L. CHEVILLARD.- 2nd Intern. Sympos. on Drugs affecting Lipid Metabolism. Milan, Sept. 1965.

Action du phényléthylacétate de Sodium sur le cholestérol sérique de rats adaptés à 5° et 30° et soumis à divers régimes hyperlipidiques.

R. PORTET, C. SENAULT-BOURNIQUE et L. CHEVILLARD.- 3rd Intern. Pharmacol. Congr., Sao Paulo, Brazil, Juil. 1966, 245, abstr. 630.

Effets Physiopathologiques de régimes hyperlipidiques chez les rats adaptés à différentes températures d'élevage.

C. SENAULT-BOURNIQUE, R. PORTET, L. CHEVILLARD.- 7è Congr. Intern. Nutrit., Hambourg, Aout 1966.

Lipides totaux de la carcasse chez le Rat adapté à différentes températures et soumis à divers régimes alimentaires.

C. SENAULT-BOURNIQUE, R. PORTET et L. CHEVILLARD.- C. R. Soc. Biol.- 1967, 161, 233

Teneur en lipides et en cholestérol du foie du Rat adapté à différentes températures et soumis à divers régimes alimentaires.

R. PORTET, C. SENAULT-BOURNIQUE et L. CHEVILLARD.- C. R. Soc. Biol., 1967, 161, 268.

Lipides totaux et cholestérol du tissu adipeux brun chez le Rat adapté à 5° et 30° C et soumis à divers régimes hyperlipidiques.

L. CHEVILLARD, C. SENAULT-BOURNIQUE et R. PORTET.- C. R. Soc. Biol.- 1967, 161, 563.

- Incidence de la température d'élevage et du régime alimentaire (taux de lipides, nature des glucides) sur la fréquence d'apparition de l'athérome aortique chez le Rat.

L. CHEVILLARD, C. COMBESCOOT, R. PORTET, C. SENAULT et F. REYMOUARD.- C. R. Acad. Sc.- 1968, 266, 1868, série D.

Effets du régime alimentaire et de la température d'élevage sur les taux de divers constituants des lipides du Rat.

C. SENAULT-BOURNIQUE, R. PORTET, et L. CHEVILLARD.- Réun. Assoc. Physiol., Lyon, Sept. 1968. J. de Physiol.- 1969, 60, suppl. 2, 544.

